

Entwicklung eines Anreicherungsverfahrens von Metallen aus Abwasserproben mit isotachophoretischer Endbestimmung

Vom Fachbereich Bauingenieurwesen und Geodäsie
der Technischen Universität Darmstadt
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor-Ingenieurs (Dr.-Ing.) genehmigte Dissertation

von

Dipl.-Ing. Bernd Leinert

aus Heppenheim

| | |
|-----------------------------|--|
| Referent: | Prof. Dr. rer. nat. Johannes Jäger |
| Mitberichterstatte: | Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Hugo M. Ortner |
| Tag der Einreichung: | 21.03.2001 |
| Tag der mündlichen Prüfung: | 06.07.2001 |

Darmstadt 2001

D 17

Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. Jäger, Herrn Prof. Dr. H. M. Ortner und Herrn Dr. P. Hoffmann möchte ich für die Unterstützung und die zahlreichen Diskussionen im Zusammenhang mit dieser Arbeit danken.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. N. Fichtner und Herrn Dr. F. Eisenbeiß für die engagierte und äußerst kompetente Betreuung während meiner praktischen Arbeit bei der Fa. Merck KGaA, Darmstadt bedanken.

Ferner bedanke ich mich bei Herrn Dr. Härtner (Fa. Merck KGaA, Darmstadt) für die Möglichkeit, diese Arbeit durchzuführen.

Bei Herrn Dr. Th. Meißner möchte ich mich besonders für seine Unterstützung bei der Einführung in die Isotachophorese bedanken.

Herrn Th. Stein danke ich für seine Ratschläge und seine stete Hilfsbereitschaft.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Arbeitskreises von Herrn Prof. H. M. Ortner und den Mitarbeitern der Fa. Merck KGaA, Darmstadt, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern, meiner Frau Lissi und meinem Sohn Max bedanken.

Vorwort

Unser Planet Erde wird der blaue Planet genannt. Die Farbe blau wird mit Wasser assoziiert, und die Oberfläche unseres Planeten Erde ist zum überwiegenden Teil mit Wasser bedeckt.

Das erste Leben auf der Erde entstand bereits vor über drei Milliarden Jahren und ohne Wasser ist Leben nicht möglich. Wasser gehört deshalb zum entscheidenden Bestandteil der Entwicklung und Erhaltung von Leben auf der Erde.

Schon zu frühester Zeit gab es heftige Auseinandersetzungen um Wasser und seine Quellen. In unserer heutigen Zeit ist, bei einer Weltbevölkerung von etwa sechs Milliarden Menschen, der Wert des Wassers weiter gestiegen. Die Nutzung des Wassers reicht in alle Lebensbereiche hinein. Der private Haushalt benötigt das Wasser als Lebens- und Reinigungsmittel. Die Industrie kann ohne das Wasser als Kühl-, Lösungs- und Reaktionsmittel nicht existieren. Daher stellt unsere heutige Gesellschaft außerordentlich hohe quantitative und qualitative Ansprüche an das Wasser.

Die Funktionen des Wassers im Ökosystem sind zahlreich und es unterliegt einer vielfältigen wie auch umfangreicher Nutzung durch unsere Gesellschaft. Da alle an das Wasser gestellten Ansprüche oft miteinander konkurrieren, bedarf es einer sinnvollen Gestaltung der Bewirtschaftung, die den verschiedenartigen Nutzungsansprüchen gerecht wird.

Ein derartiges Vorgehen stellt sehr hohe Ansprüche an die Verwalter der Wasserressourcen, an politische Entscheidungsträger und natürlich auch an die Nutzer, wie Privathaushalte, Landwirtschaft, Kommunen oder die Industrie. Letztendlich entscheiden alle über unser Wasser, ob es in Zukunft in ausreichender Qualität zur Verfügung steht.

Das deutsche Wasserrecht bildet die Gesamtheit der die Wasserverhältnisse regelnden Vorschriften. Es ist in seinen Teilen Ordnungsrecht, Abgaberecht und Gewässerschutz.

Jede Abwassereinleitung muss nach ökologischen und ökonomischen Gesichtspunkten gerechtfertigt sein und bedarf einer Genehmigung. Es steht natürlich außer Frage, dass darauf geachtet werden muss, sorgfältig mit unserem Wasser umzugehen.

Da sich die Lebensbedürfnisse ständig weiterentwickeln und dadurch die Situation unserer Wasserressourcen verändern, ist es notwendig intensive Forschung und Entwicklung zu betreiben, um aktuelle Probleme zu erkennen und zu lösen.

| | |
|--|-----------|
| Vorwort | I |
| Symbole | IV |
| 1 Einleitung | 1 |
| 1.1 Natürliche Abwasserinhaltsstoffe und deren Bedeutung | 4 |
| 1.2 Anthropogene Abwasserinhaltsstoffe und deren Bedeutung | 5 |
| 1.3 Abwasserbehandlungsanlage der Fa. Merck KGaA, Darmstadt..... | 7 |
| 1.4 Bestimmung der Schwermetalle nach DIN 38406..... | 10 |
| 2 Problemstellung..... | 12 |
| 2.1 Die zu untersuchenden Proben..... | 14 |
| 3 Theoretischer Teil | 16 |
| 3.1 Spuren-Matrix-Trennung an metallselektiven Sorbentien | 16 |
| 3.1.1 Anreicherung an festgebundenen Komplexbildnern..... | 16 |
| 3.1.2 Spuren-Matrix-Trennung mit Hilfe konventioneller Ionenaustauscher | 19 |
| 3.1.3 Statisches und dynamisches Verfahren..... | 20 |
| 3.2 Grundlagen der Isotachophorese..... | 22 |
| 3.2.1 Konzept der Mobilität | 23 |
| 3.2.2 Trennprinzip der Isotachophorese..... | 26 |
| 3.2.3 Trennparameter und Trennkapazität der Isotachophorese | 27 |
| 3.2.4 Beeinflussung der Trennung von Ionen | 29 |
| 3.2.5 Beeinflussung der Trennung durch Komplexbildung; Grundlagen der Metallbestimmung | 30 |
| 3.2.6 Beeinflussung der Trennung durch den pH-Wert | 31 |
| 3.2.7 Ausbildung eines "enforced Systems" | 32 |
| 3.2.8 Isotachophoretische Zonen | 33 |
| 3.2.9 Dynamische Zonenschärfung "self sharpening Effect" | 34 |
| 3.2.10 Mathematisches Modell der Isotachophorese | 36 |
| 3.2.11 Qualitative und quantitative Information | 37 |
| 3.3 Mathematisch-Statistische Grundlagen..... | 38 |
| 3.3.1 Regressionsanalyse | 38 |
| 3.3.2 Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion | 39 |
| 3.3.3 Verfahrensstandardabweichung und relative Verfahrensstandardabweichung | 41 |
| 3.3.4 Methodenvergleich in der Routine..... | 42 |
| 3.3.4.1 Methodenvergleich an realen Proben durch Präzisions- und Mittelwertvergleich | 42 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.3.4.2 | Orthogonalregression und Differenzen-t-Test..... | 44 |
| 3.3.4.3 | Verfahren nach Bablok-Passing | 45 |
| 4 | Experimenteller Teil | 48 |
| 4.1 | Beschreibung des Analysengeräts ItaChrom EA 101 | 48 |
| 4.2 | Beschreibung des Analysengeräts Plasma 40 | 53 |
| 4.3 | Beschreibung der eingesetzten metallselektiven Sorbentien | 53 |
| 4.3.1 | Kationenaustauscher I, Fa. Merck KGaA, Darmstadt | 53 |
| 4.3.2 | Cellulose Hyphan [®] , Fa Riedel-de Haen | 54 |
| 4.3.3 | Mischbettaustauscher V, Fa. Merck KGaA, Darmstadt..... | 54 |
| 4.3.4 | Adsorberharz Divergan [®] HM, Fa. BASF | 55 |
| 4.4 | Übersicht der übrigen Geräte und Chemikalien..... | 56 |
| 4.5 | Auswahl des Austauschersystems zur Anreicherung der Metalle Chrom, Kupfer, Nickel, Zink, Cadmium und Blei..... | 57 |
| 4.6 | Optimierung der Elutionsparameter..... | 62 |
| 4.7 | Anreicherung am Austauschersystem aus Realproben | 64 |
| 4.8 | Praktische Systemcharakterisierung der ItaChrom EA 101..... | 72 |
| 4.8.1 | Auswahl des Elektrolytsystems | 72 |
| 4.8.2 | Zonenlänge als Funktion des Stroms und Injektionsvolumen | 76 |
| 4.8.3 | Optimierung des Elektrolytsystems | 79 |
| 4.8.4 | Ohm-Plot..... | 81 |
| 4.8.5 | Kalibrierfunktionen | 82 |
| 4.8.6 | Selektivität | 83 |
| 4.8.7 | Richtigkeit..... | 85 |
| 4.8.8 | Reproduzierbarkeit..... | 86 |
| 4.9 | Methodenvergleich der Analysenverfahren ITP und ICP-OES | 87 |
| 5 | Zusammenfassung..... | 98 |
| 6 | Ausblick..... | 101 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 102 |

Symbole

| | |
|------------|--|
| α | Dissoziationsgrad |
| a_1 | Steigung der Regressionsgeraden |
| a_0 | Achsenabschnitt der Regressionsgeraden |
| AbwAG | Abwasserabgabengesetz |
| AOX | Adsorbierbare gebundene organische Halogenen |
| APDC | Ammoniumpyrrolidindithiocarbamat |
| BSB5 | biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen |
| c | Konzentration [mol l^{-1}] |
| CEC | Kapillarelektrochromatographie |
| CGE | Kapillargelelektrophorese |
| CSB | chemischer Sauerstoffbedarf |
| CZE | Kapillarzonenlektrophorese |
| D_i | Differenz zwischen zwei Werten auf der i -ten Stufe |
| DADC | Diethylammoniumdithiocarbamat |
| DEV | deutsches Einheitsverfahren |
| DVIon | N,N-Divinylimidazolidon |
| E | Elektrische Feldstärke [V m^{-1}] |
| e | Elementarladung [$1,60819 \cdot 10^{-19} \text{ C}$] |
| EU | Europäische Union |
| EDTrA | Ethylendiamintriessigsäure |
| F | Faradaykonstante [$96484,56 \text{ C mol}^{-1}$] |
| f | Kraft [N] |
| χ | elektrische Leitfähigkeit [$\Omega \text{ cm}^{-1}$] |
| h_γ | kritische Grenze |
| I | Stromstärke [A] |
| ICP | induktiv gekoppeltes Plasma |
| i. D. | innerer Durchmesser |
| IEF | Isoelektrische Fokussierung |
| ITP | Isotachophorese |
| η | Viskosität [N s m^{-2}] |
| j | Ionenstärke [mol l^{-1}] |
| K | Komplexbildungskonstante |
| k | dimensionsloser Korrekturfaktor |
| k_T | Korrekturfaktor [K^{-1}] |

| | |
|-----------------------|--|
| l | Länge [cm] |
| L_d | Leitelektrolyt |
| m_{Standard} | Standardmolalität [1 mol l^{-1}] |
| MEKC | Mizellare-Elektrokinetische Kapillar-Chromatographie |
| MHEC | Methylhydroxyethylcellulose |
| N_A | Stoffmenge [mol] |
| N | Anzahl |
| n | Anzahl der Wiederholbestimmungen |
| NAW | Normenausschuss Wasserwesen |
| NVI | N-Vinylimidazol |
| NVP | N-Vinylpyrrolidon |
| Λ | Ionenäquivalentleitfähigkeit [$\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$] |
| OES | optische Emissionsspektrometrie |
| P | Wahrscheinlichkeit |
| PG | Prüfgröße |
| PVPP | Polyvinylpyrrolidon |
| Q | Quadratsumme |
| Q_L | "column hold-up" [C] |
| $Q_{L\text{min}}$ | minimale Ladungstransport [C] |
| Q_s | Ladungsmenge [C] |
| R_K | Gaskonstante [$8,31441 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$] |
| R | Korrelationskoeffizient |
| r | Radius [m] |
| r_{AB} | Selektivitätskoeffizient |
| r_i | score |
| RSD | relative Standardabweichung [%] |
| s | Standardabweichung |
| s_R, s_A | Standardabweichung Referenzverfahren bzw. Alternativverfahren |
| s_{a0} | Standardabweichung des Achsenabschnitts a_0 der Regressionsgeraden |
| s_{a1} | Standardabweichung der Steigung a_1 der Regressionsgeraden |
| s_y | Reststandardabweichung |
| s_{x0} | Verfahrensstandardabweichung |
| $s_{x0\text{rel}}$ | relative Verfahrensstandardabweichung |
| StGB | Strafgesetzbuch |
| T | Temperatur [K] |
| T_0 | Standardtemperatur [298 K] |

| | |
|--------------------|---|
| t | Student- t -Faktor |
| T31;T55 | interne Gebäudebezeichnungen der Fa. Merck KGaA |
| Tm | Folgeelektrolyt |
| TS | Trockenschlamm |
| ÜW | Überwachungswert |
| v | Geschwindigkeit [m s^{-1}] |
| VB | Vertrauensbereich (Prognoseintervall) |
| W | Joulsche Wärme [W cm^{-3}] |
| WHG | Wasserhaushaltsgesetz |
| WW | Warnwert |
| μ | Mobilität [$\text{cm}^2 \text{v}^{-1} \text{s}^{-1}$] |
| μ_0 | absolute Mobilität [$\text{cm}^2 \text{v}^{-1} \text{s}^{-1}$] |
| μ_{act} | aktuelle Mobilität [$\text{cm}^2 \text{v}^{-1} \text{s}^{-1}$] |
| μ_{eff} | effektive Mobilität [$\text{cm}^2 \text{v}^{-1} \text{s}^{-1}$] |
| X | Zonenlänge [cm] |
| x | Molenbruch |
| x_{iA} | Messwert i des Alternativverfahren |
| x_{iR} | Messwert i des Referenzverfahren |
| x_i | Konzentration der i -ten Probe |
| y_i | Informationswert der i -ten Probe |
| z | Ladungszahl |
| ZABA | zentrale Abwasserbehandlungsanlage |

1 Einleitung

Zentrale Aufgaben einer Umweltpolitik sind zum einen der vorsorgende Schutz der Gewässer zum anderen die Sicherstellung der öffentlichen Wasserversorgung. Der Grundsatz der sparsamen Verwendung der Ressource Wasser gewinnt u. a. wegen regionaler Versorgungsengpässe immer mehr an Bedeutung.

Das Hauptaugenmerk liegt jedoch in der Verbesserung der Wasserqualität. Gerade Ende der 60er - und Anfang der 70er Jahre hatte die Verschmutzung der natürlichen Gewässer besorgniserregende Ausmaße angenommen. Der Gewässerschutz konnte mit der industriellen Tätigkeit nicht Schritt halten.

Durch den Bau von über 8000 Kläranlagen im kommunalen Bereich sowie durch intensive Abwasserbehandlung und zusätzliche Maßnahmen bei Industriebetrieben ist der Eintrag von sauerstoffzehrenden organischen Stoffen und anderen Schadstoffen in unsere Gewässer erheblich verringert worden.

Ein besonderes Problem stellt vor allem die Belastung der Gewässer mit giftigen, abbaubaren, organischen Stoffen und mit Schwermetallen dar. Ein weiteres Problem stellt der Eintrag von Nährstoffen dar. Gerade die Überdüngung durch Eintrag von Stickstoff und Phosphor aus Landwirtschaft, Industrie, Gewerbe und Haushalten hat zu einem überproportionalen Algenwachstum und anschließend zu Sauerstoffmangel und Fischsterben geführt.

Durch Verschärfung der Anforderungen an kommunale und industrielle Kläranlagen und durch Anreize der Abwasserabgabenregelung sind seitens der Bundesregierung die Weichen für eine maßgebliche Reduzierung der Einträge von gefährlichen Stoffen und Nährstoffen in unsere Gewässer gestellt worden. Das bedeutet, dass von dem Verursacher dieser Einträge in Zukunft große Anstrengungen und hoher finanzieller Einsatz abverlangt wird.

- **Rechtliche Instrumente der Wasserwirtschaft**

Aufgrund des föderativen Aufbaus der Bundesrepublik Deutschland sind die staatlichen Aufgaben auf Bund und Länder verteilt.

Auf dem Gebiet des Wasserhaushaltes hat der Bund das Recht Rahmenvorschriften zu erlassen, die sogenannte Rahmenkompetenz. Das bedeutet, dass der Bund den Ländern einen rechtlichen Regelungsrahmen vorgibt, den die Länder durch eigenes Landesrecht ausfüllen und ergänzen.

Damit ist der Verwaltungsvollzug aller wasserrechtlichen Vorschriften ausschließlich der Bundesgesetze Sache der Länder. Eine Ausnahme bilden die Bundeswasserstrassen, deren Bau, Ausbau und Unterhaltung Sache des Bundes ist.

- **Das Wasserhaushaltsgesetz**

Das Wasserhaushaltsgesetz (WHG) von 1957 (zuletzt novelliert und bekannt gemacht 1996) bildet den gesetzlichen Rahmen des Bundes für grundlegende Bestimmungen über wasserwirtschaftliche Maßnahmen. Es schreibt vor, dass Gewässer als Bestandteil des Naturhaushaltes und als Lebensraum für Tiere und Pflanzen zu sichern sind [1].

Die Gewässer - auch das Grundwasser - sind vollkommen unter staatliche Aufsicht gestellt. Damit bedarf jede Gewässernutzung - auch das Einleiten von Stoffen - grundsätzlich einer behördlichen Genehmigung. So darf z. B. eine Erlaubnis zur Abwassereinleitung nur dann erteilt werden, wenn festgelegte Mindestanforderungen erfüllt sind, unabhängig vom Zustand des Gewässers (z. B. einheitlich nach Industrie differenzierte Emissionsgrenzwerte). Zusätzliche Anforderungen und gegebenenfalls Einleitungsverbote können von der Wasserbehörde z. B. unter dem Gesichtspunkt der Sicherstellung der Wasserqualität begründet werden.

Das WHG regelt außerdem die Zulassung, den Bau und Betrieb von Abwasserbehandlungsanlagen, den Ausbau von Gewässern und die Festlegung von Überschwemmungsgebieten. Darüber hinaus sieht das WHG die Möglichkeit vor, Wasserschutzgebiete festzusetzen.

Wer unbefugt ein Gewässer verunreinigt, macht sich nach dem Strafgesetzbuch (StGB) strafbar. Die Schadensersatzansprüche werden dagegen im WHG geregelt.

- **Das Abwasserabgabengesetz**

Das Abwasserabgabengesetz (AbwAG) von 1976 (zuletzt novelliert 1994) sieht für das Einleiten von Abwasser in ein Gewässer im Sinne des § 1 Abs. 1 des WHG eine Abgabe vor, die durch die Länder erhoben und für Maßnahmen zweckgebunden zur Gewässer Reinhaltung ist. Durch diese Abgabe wird das Verursacherprinzip zur Anwendung gebracht. Die Abgabe richtet sich nach der Menge und der Schädlichkeit eingeleiteter Inhaltsstoffe, die unter Zugrundelegung der oxidierbaren Stoffe, des Phosphors, des Stickstoffs, der organischen Halogenverbindungen, der Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei und ihrer Verbindungen sowie der Giftigkeit des Abwassers gegenüber Fischen nach der Anlage zu diesem Gesetz in Schadeinheiten bestimmt wird [2].

Wie schon erwähnt, sind die wichtigsten Bundesgesetze im Bereich der Wasserwirtschaft (WHG und AbwAG) nur Rahmengesetze; das bedeutet, dass auch die wasserrechtlichen Regelungen der Länder (Landeswassergesetze, Landesabwassergesetze und verschiedene Rechtsordnungen) wichtige Vorschriften enthalten, die den vom Bund vorgegebenen Rahmen konkretisieren und ergänzen [3, 4, 5, 6]. So werden z. B. das Eigentum an Gewässern, die Gewässeraufsicht, die Gewässerunterhaltung, die Zulassungs- und Kontrollverfahren für Gewässerbenutzungen und Indirekteinleiter (Einleitungen über Abwasserbehandlungsanlagen) über die Länder geregelt.

Des Weiteren werden von den Ländern auch Bestimmungen über Abgaben getroffen, die für die Entnahme von Grund- und Oberflächenwasser zu entrichten sind (Wassernutzungsentgelte).

- **Anforderungen an die Abwasserbehandlung**

Um den Zustand unserer Gewässer ständig weiter zu verbessern, werden in Deutschland nach dem Emissionsprinzip strenge Anforderungen an die Abwasserbehandlung gestellt. Dabei ist die Verpflichtung zu einer Reduzierung der Nährstoffe Stickstoff und Phosphor bei kommunalen als auch bei industriellen

Einleitungen hervorzuheben. Des weitern gilt es, Abwasser nach dem Stand der Technik zu vermeiden und zu reinigen. Dies gilt sowohl für Direkt- als auch für Indirekteinleiter.

Es gelten stets die in den Anhängen zur Abwasserverordnung und allgemeinen Rahmen- und Verwaltungsvorschrift über Mindestanforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer festgelegten, nach Branchen differenzierten Emissionsnormen auf Grundlage des WHG. Allerdings sind seit der Novellierung des WHG im Jahre 1996 die Mindestanforderungen nicht mehr in Verwaltungsvorschriften, sondern in einer Rechtsverordnung des Bundes festgelegt.

Damit wird der EU Rechnung getragen, die zur Umsetzung von EU -Richtlinien Rechtsvorschriften verlangt. Die Rechtsverordnung - die Abwasserverordnung - ist von der Bundesregierung im März 1997 erlassen worden. Die vorher geltenden Abwasserverwaltungsvorschriften werden aber erst mit der Zeit in die Abwasserverordnung überführt.

Die Realisierung dieser Forderungen seitens des Gesetzgebers für alle Abwasserbehandlungsanlagen haben Betriebsoptimierungen und große Investitionen zur Folge. Gerade bei industriellen Abwasserbehandlungsanlagen werden diese Forderungen zu einer Verbesserung der Reinigungstechnologien und vor allem auch innerbetriebliche Vermeidungsmaßnahmen führen.

Zu den innerbetrieblichen Maßnahmen gehören die Entwicklung und Bereitstellung von abwasserarmen bzw. abwasserfreien Produktionstechnologien wie auch der Ersatz von hochgiftigen Stoffen durch weniger giftige Stoffe.

- **Die Situation der FA. Merck KGaA im Stammwerk Darmstadt**

Darmstadt ist der Stammsitz der Fa. Merck KGaA. Forschung, Entwicklung, Produktion, Logistik und Verwaltung sind an diesem Standort angesiedelt. Das Firmengelände in Darmstadt ist etwa eine n Quadrat-kilometer groß. Es arbeiten fast 7000 Mitarbeiter und 2000 zusätzliche Dienstleister anderer Firmen an diesem Standort.

Das Stammwerk Darmstadt liegt nicht an einem natürlichen Gewässer und fördert das benötigte Wasser aus eigenen Brunnenanlagen. Die Wasserförderung lag 1998 bei 2,9 Mio. m³, von der Südhessischen Gas- und Wasser AG wurden 1998 rund 100.000 m³ Grundwasser bezogen.

Dabei fallen etwa die Hälfte des im Werk Darmstadt genutzten Wassers auf die Chemieproduktion. Ein Fünftel wird für die Energieversorgung benötigt und der Rest verteilt sich auf verschiedene andere Bereiche wie Forschung oder Pharma-Produktion.

Durch gezielte Maßnahmen konnte der Wasserverbrauch gegenüber dem Beginn der 90er Jahre bis 1998 mehr als halbiert werden. Diese Reduzierung ist vor allem auf technische Maßnahmen und Verfahrensoptimierungen zurückzuführen. Mit dazu beigetragen hat aber auch die Entwicklung neuer wassersparender Produktionsverfahren und ein bewusster Umgang der Mitarbeiter mit dem Gut Wasser.

1.1 Natürliche Abwasserinhaltsstoffe und deren Bedeutung

Ein natürliches Gewässer stellt ein hochorganisiertes offenes System als Teil der Umwelt dar und dessen Grundlage ist die Ausbildung eines Fließgleichgewichts zwischen Stoffauf- und Stoffabbau [8].

Die autotrophen Produzenten, d. h. nicht auf organische Stoffe angewiesen, sondern befähigt anorganische Substanzen in körpereigene organische Substanzen umzusetzen, bilden den Anfang der Nahrungskette. Sie stehen für den Aufbau organischer Substanz (Biomasse) aus den anorganischen Nährstoffen, vor allem Phosphor- und Stickstoffverbindungen, Kohlendioxid sowie Wasser durch Photosynthese (Blaualgen, grüne Pflanzen) oder Chemosynthese (Purpurbakterien). Die Biomasse stellt letztendlich die Nahrungsgrundlage für die heterotrophen Konsumenten (Tiere) dar, an deren Ende der Mensch steht. Die durch autotrophe Organismen gebildete Biomasse wird als Primärprodukt, die durch tierische Organismen gebildete Biomasse als Sekundärprodukt bezeichnet. Für das Selbstreinigungspotential der natürlichen Gewässer, das hauptsächlich auf die biochemisch leicht abbaubaren Stoffe beschränkt ist, haben die Destruenten (Mikroorganismen wie Bakterien oder Pilze) eine herausragende Bedeutung, die im Wasser anfallende organische Substanzen (Laub, abgestorbene Organismen, Exkremente, etc.) zu verwerten und durch Mineralisation in anorganische Verbindungen zu überführen. Danach können die Elemente wieder in den natürlichen Stoffkreislauf zurückkehren. Die organischen Verbindungen, die gar nicht oder nur unvollständig mineralisiert werden, werden in Form von schwer oder nicht abbaubaren Huminstoffen stabilisiert. Die Elimination der leicht abbaubaren Stoffe, wie Proteine oder Kohlenhydrate erfolgt immer zuerst und danach werden schwer abbaubare Substanzen wie z. B. Huminstoffe abgebaut. Des Weiteren ist für den Umfang des Abbaus von Substraten die Elementzusammensetzung, hauptsächlich das Kohlenstoff/Stickstoff/Phosphor-Verhältnis verantwortlich, da bei Mangel an Stickstoff- und/oder Phosphorverbindungen keine Inkorporation durch Organismen möglich ist. Neben der Oxidation und Reduktion von Schwefelverbindungen, Methanoxidation und -bildung und der Eisen- bzw. Manganoxidation sind die Stoffwechselprozesse des Stickstoffkreislaufs die wichtigsten chemosynthetischen Reaktionen.

Solange naturgegebene Grenzen nicht überschritten werden, bleibt das natürliche Gleichgewicht und damit das Selbstreinigungspotential der Gewässer erhalten [9]. Dieses Gleichgewicht wird dann gestört, wenn:

- Ein Überangebot an biologisch abbaubaren organischen Substanzen oder Pflanzennährstoffen vorhanden ist bzw.
- das ökologische System durch schwer abbaubare und/oder in toxisch wirkender Konzentration vorkommender Stoffe belastet ist.

Inwieweit das aquatische System belastet werden kann, um nicht aus seinem natürlichen Gleichgewicht zu kommen, hängt von der Art des aquatischen Systems selbst ab. Fließgewässer besitzen z. B. aufgrund einer starken Durchmischung und einer dadurch bedingten höheren atmosphärischen Belüftung in Bezug auf die Elimination von leicht abbaubaren Substanzen ein um etwa hundertfach höheres Leistungsvermögen im Vergleich zu stehenden Gewässern [10].

Da in den Abwasserbehandlungsanlagen als künstlichen Ökosystemen prinzipiell die gleichen Vorgänge ablaufen wie in natürlichen Gewässern, beeinflussen die genannten Stoffgruppen auch deren Reinigungsleistung. In den biologischen Stufen einer Abwasserbehandlungsanlage wird z. B. die Denitrifikation zur Elimination hoher unerwünschter Nitratkonzentrationen eingesetzt. Allerdings besteht in den Abwasserbehandlungsanlagen im Gegensatz zu den natürlichen Gewässern die Möglichkeit, die natürlichen biologischen und chemisch-physikalischen Eliminierungs- und Abbauprozesse durch geeignete technische Maßnahmen zu unterstützen [10].

1.2 Anthropogene Abwasserinhaltsstoffe und deren Bedeutung

Zu den in niedrigen Konzentrationen toxisch wirkenden Substanzen gehören Schwermetalle und meist natürliche fremde organische Verbindungen. Algentoxine oder Huminstoffe bzw. huminstoffartige Verbindungen, wobei letztere nur das Stabilisierungsprodukt von nicht vollständig mineralisierten organischen Substanzen darstellen, sind natürlichen Ursprungs. Allerdings sind die meisten schwer abbaubaren und toxischen organischen Substanzen anthropogenen Ursprungs. Dazu zählen organische Abwasserinhaltsstoffe wie kanzerogene polyzyklische Aromaten, die Organophosphorverbindungen und vor allem die halogenierten Kohlenwasserstoffe. Die Chlorierung zur Herstellung unzähliger Zwischen- und Endprodukten stellt in der chemischen Industrie eine der häufigsten angewandte Reaktion dar. Dabei entstehen oft sehr toxische Nebenprodukte wie z. B. Dioxine. In der Natur sind keine enzymatischen Funktionen zur C-Cl-Spaltung bekannt, daher kann der enzymatische Abbau der Organohalogenverbindungen nur über den organischen Rest erfolgen. Das hat zur Folge, dass die Hemmung der Zersetzung mit dem Grad der Chlorierung zunimmt [11, 12].

Zahlreiche Metalle (z. B. Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei u. a.) sind für pflanzliche und tierische Organismen zwar essentielle Spurenelemente, stellen aber bei einem Überangebot einen Hemmfaktor für enzymatische Reaktionen dar. Von entscheidender Bedeutung ist außerdem die Art der Verbindung bzw. die Oxidationszahl, in der die Schwermetalle vorliegen [13]. Bei Ableitung erhöhter Metallfrachten, verursacht z. B. durch betriebsbedingte Störungen oder Unregelmäßigkeiten bei der Vorbehandlung von metallhaltigen Abwässern in Industriebetrieben, kann es, je nach örtlichen Verhältnissen, zu einer mehr oder weniger deutlichen Erhöhung der Konzentrationen und Frachten in industriellen Kanalsystemen kommen. Dadurch bedingt kann es zu einer Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit bzw. Leistungsfähigkeit der biologischen Reinigung von Abwässern kommen. Bei der Einwirkung erhöhter Schwermetallkonzentrationen auf die biologische Reinigung in Abwasserbehandlungsanlagen findet die Adaption, das bedeutet die Fähigkeit der Bakterien ihr Enzymsystem auf den hemmenden Stoff ein und umzustellen, ihre Grenzen. Die Bakterien können ihren Stoffwechsel nicht mehr um- bzw. neu einstellen und ein regelrechtes "Verhungern" der Bakterien tritt ein, wenn es z. B. zu einer Verringerung der Schwermetallkonzentrationen kommt. Auch eine für die Lebensgemeinschaft toxische Konzentration von Schwermetallen hervorgerufen durch Stossbelastungen kann rasch zu einer Inaktivierung der biologischen Reinigung einer Abwasserbehandlungs-

anlage führen. In Folge dessen tritt eine deutliche Verschlechterung der Ablaufqualität des Abwassers ein. Des Weiteren kann ein oftmaliges Einleiten von Schwermetallen in erhöhter Konzentration zu einer Beeinflussung des biologischen Ablaufs führen, weil die Metalle vom Belebtschlamm aufgenommen werden und nach einer bestimmten Zeit die für den Belebtschlamm toxische Schwermetallkonzentration erreicht bzw. überschritten wird. Darüber hinaus kann eine erhöhte Konzentration von Schwermetallen, die für die biologische Abwasserbehandlung in der Abwasserbehandlungsanlage ohne Bedeutung ist, zu Problemen bei der Klärschlamm Entsorgung bzw. Verwertung kommen. Mit einer Verwertung von mit Schwermetallen belastetem Klärschlamm sind Restriktionen verbunden. In der biologischen Stufe spielen in Hinblick auf die, für die Lebensgemeinschaft toxische Konzentration von Schwermetallen, Schlammkonzentration, Schlammbelastung, Abwasserkonzentration, pH-Wert und Temperatur eine Rolle. Das bedeutet, dass letztendlich viele Faktoren zum Tragen kommen und entscheidend sind, ob und wie sich ein mit Schwermetallen kontaminiertes Abwasser auf den biologischen Reinigungsprozess auswirkt. Zusammenfassend wird deutlich, dass eine Überwachung und Beurteilung zum einen der Gewässergüte als auch der Reinigungsleistung einer Abwasserbehandlungsanlage unabdingbar ist. Dazu sind natürlich Kenntnisse über alle Schadstoffe nötig. Diese werden zugänglich mit Hilfe von Daten, die durch die Anwendung geeigneter Analyseverfahren erhalten werden. In Tab. 1 sind Abwasserparameter und die zu ihrer Bestimmung einzusetzenden Referenzverfahren (DIN-Reihe 38400), die als deutsche Einheitsverfahren (DEV) zu Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung zusammengefasst werden, zusammengestellt.

| Parameter | DIN/DEV | Kurzbeschreibung |
|---|---------------|---|
| Metallbestimmung | 38 406 E 22 | Bestimmung der Metalle mittels Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES). |
| Adsorbierbare organisch gebundene Halogene (AOX) | 38 409 H 14 | Adsorption an Aktivkohle; coulometrische Bestimmung der nach Verbrennung gebildeten Halogenwasserstoffe. |
| Biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen (BSB ₅) | 38 409 H 51 | Bestimmung der Sauerstoffzehrung in 5 Tagen unter nahezu optimalen physiologischen Bedingungen; Zusatz von N-Allylthioharnstoff als Nitrifikationshemmstoff. |
| Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) | 38 409 H 43-1 | Kurzzeitmethode; Oxidation org. Verbindungen mit K ₂ Cr ₂ O ₇ in schwefelsaurer Lösung unter katalytischer Wirkung von Ag ₂ SO ₄ ; Maskierung von Cl ⁻ -Ionen durch Hg ²⁺ -Ionen; maßanalytische Bestimmung der nicht verbrauchten Cr ₂ O ₇ -Ionen mit Fe(II)-Ionen. |
| Gesamtstickstoff (N _{ges.}) | 38 409 H 28 | Bestimmung von gebundenem Stickstoff (org. N-Verbindungen, NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , NH ₄ ⁺); Verfahren nach Reduktion mit Devardascher-Legierung und katalytischem Aufschluss; Bestimmung des gebildeten NH ₄ ⁺ -Stickstoffs nach Wasserdampfdestillation durch Titration mit verdünnter Salzsäure. |
| Ammonium-Stickstoff (NH ₄ ⁺ -N) | 38 406 E 5-1 | Photometrische Bestimmung als Indophenolblauderivat nach Umsetzung mit Hypochlorit-Ionen und Salicylat-Ionen in Gegenwart von Nitroprussidnatrium als Katalysator. |
| Nitrat-Stickstoff (NO ₃ ⁻ -N) | 38 405 D 9-3 | Photometrische Bestimmung als 2-Nitro-4-fluorphenol nach Reaktion mit p-Fluorphenol (Nitrierung) in Verbindung mit einer Wasserdampfdestillation. |
| Orthophosphat (o-PO ₄ ³⁻ -P) | 38 405 D 11-1 | Photometrische Bestimmung als Phosphormolybdänblau nach Reaktion mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung bei Anwesenheit von Ascorbinsäure und Kaliumantimon(III)oxidtartrat. |

Tab. 1: Referenzverfahren für die Bestimmung von Summenparametern und Einzelsubstanzen [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]

1.3 Abwasserbehandlungsanlage der Fa. Merck KGaA, Darmstadt

Die zentrale Abwasserbehandlungsanlage ZABA der Fa. Merck KGaA, Darmstadt, ist eine für industrielles Abwasser konzipierte mehrstufige Kläranlage. Die Bemessungsgrundlage entspricht 500000 Einwohnergleichwerten, was einer maximalen Belastung von 30 t/d BSB₅ (biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen) durch Rohabwasser entspricht. Im Durchschnitt fallen täglich 6 300 m³ Abwasser an.

Der Aufbau der zentralen Abwasserbehandlungsanlage ZABA der Fa. Merck KGaA, Darmstadt ist in Abb. 1 schematisch dargestellt.

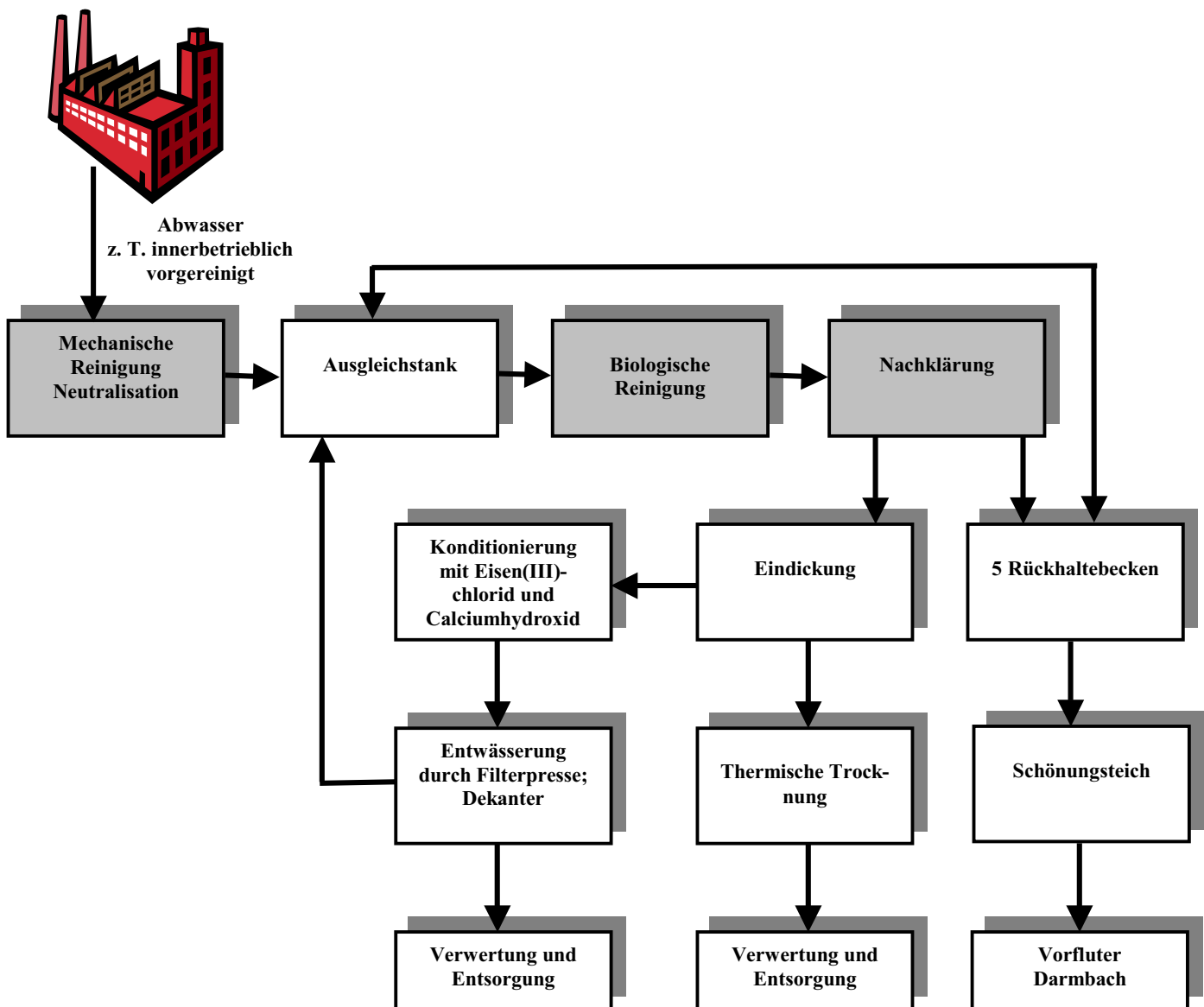


Abb. 1: Verlauf der Abwasserbehandlung in der zentralen Abwasserbehandlungsanlage der Fa. Merck KGaA, Darmstadt

Die biologische Behandlung erfolgt aerob in einem BIOHOCH Reaktor mit $5\,000\text{ m}^3$ Belebtraum und $4\,000\text{ m}^3$ Nachklärung. Zwei Belebungsstanks (aerobe Tankbiologie) a $7\,500\text{ m}^3$ mit Stickstoffeliminationstechnik können wahlweise dem BIOHOCH Reaktor parallel oder nachgeschaltet werden. Der zu konditionierende Schlamm setzt sich aus Vorklärschlamm (ca. $80\text{ m}^3/\text{d}$, $10\text{ g Trockenschlamm (TS)/l}$), Überschussbelebtschlamm (ca. $920\text{ m}^3/\text{d}$, 6 g TS/l) und Klärschlamm aus einem Zweigwerk (ca. $35\text{ m}^3/\text{d}$; 50 g TS/l) zusammen. Diese Mischung wird in zwei abgedeckten Eindickern von je 800 m^3 auf ca. 30 g TS/l eingeeengt. Anschließend wird der eingedickte Schlamm mit Eisen(III)-chlorid und Calciumhydroxid-Suspension konditioniert und auf zwei Kammerfilterpressen auf ca. $35\text{ Massen\% Trockenschlamm (TS)}$ entwässert. Der Filterkuchen wird in drei Silos zur weiteren Verwertung bzw. Entsorgung gesammelt. Täglich fallen in dieser Abwasserreinigungsanlage ca. 25 t entwässerter Klärschlammfilterkuchen mit 35 Massen\% TS an. Dieser sogenannte feuchte Klärschlammfilterkuchen wird über Sondermülldeponierung entsorgt. Grundsätzliche Anforderungen an eine Abwasserbehandlungsanlage sind die Elimination des Kohlenstoffs als CO_2 , des Stickstoffs als N_2 sowie die Abtrennung des Phosphors und nicht zuletzt der Schwermetalle. Durch eine geeignete Kombination von physikalischen, chemischen und biologischen Prozessen wird dem erforderlichen Mineralisations- und Eliminierungsgrad der Abwasserinhaltsstoffe Rechnung getragen. Die zentrale Abwasserbehandlungsanlage ZABA der Fa. Merck KGaA, Darmstadt stellt somit eine Verfahrenskombination aus drei Stufen, mechanischer Klärstufe, biologischer Klärstufe und Nachklärstufe dar. Die einzelnen Stufen werden vom Abwasser nacheinander durchlaufen.

- **Mechanische Klärstufe**

Alle Schwebstoffe verhalten sich im Abwasser nach dem Gesetz der Schwerkraft, d.h. Stoffe, die schwerer sind als Wasser, setzen sich ab, wenn die Fließgeschwindigkeit langsam genug ist. Die groben Schwemmstoffe und Schwebstoffe werden zuerst durch Rechen und Sandfang abgetrennt, denn sie würden in den anderen Teilen der Abwasserbehandlungsanlage Betriebsstörungen verursachen. Besonders der vom Rohabwasser mitgeführte Sand würde in den Schlammumpfen einen starken Verschleiß verursachen und im Faulraum leicht zur Verhärtung des Schlammes führen. Das Abwasser wird anschließend durch Salzsäure bzw. Kalk neutralisiert. Die Neutralisation dient einerseits zum Schutz der Bauwerke (Korrosion) andererseits zum Schutz der Mikroorganismen in der biologischen Klärstufe. Zum Schluss durchläuft das Abwasser in der mechanischen Klärstufe das Vorklärbecken, in dem die Fließgeschwindigkeit des Abwassers auf einige mm/s vermindert ist. Bei dieser Grobentschlammung sinken die absetzbaren Stoffe nahezu vollständig nach unten zur Beckensohle, während die aus nicht absetzbaren Schwebstoffen und gelösten Stoffen bestehende Phase in den biologisch wirkenden Kläranlage teil gelangen.

- **Biologische Klärstufe**

In der Schlammbelebungsstufe, die das Herzstück der Anlage darstellt, erfolgt die aerobe biologische Behandlung der nach der mechanischen Klärstufe verbliebenen gelösten und suspendierten Stoffe. Dabei werden die Abwasserinhaltsstoffe von Kleinstlebewesen aufgezehrt, insbesondere von schleimbildenden Bakterienarten.

Sie bilden die Belebtschlammflocken in Belebungsanlagen. Die Gesamtmasse der in einem Belebungsbecken lebenden Organismen wird als Biomasse bezeichnet. Die organischen Abwasserinhaltsstoffe werden teilweise zu Kohlensäure und wasserlöslichen Mineralsalzen oxidiert. Damit die biologische Abwasserreinigung richtig arbeiten kann, ist es wichtig, dass die Kleinstlebewesen möglichst gut mit dem Abwasser in Berührung gebracht werden und gleichzeitig durch Belüftung des Abwassers über mehrere Stunden ausreichend mit Sauerstoff versorgt werden. Der BSB₅ (biochemischen Sauerstoffbedarf in 5 Tagen) des Abwassers wird dabei um 95 % reduziert [22].

Die in der Kläranlage ablaufenden Stoffwechselvorgänge entsprechen dem Prinzip der Selbstreinigung natürlicher Gewässer. Die Adaptionfähigkeit der Mikroorganismen in der aeroben biologischen Stufe an naturfremde organische Stoffe ist wesentlich besser im Vergleich zu natürlichen Gewässern. Dadurch ist der teilweise Abbau von synthetischen organischen Stoffen, wie sie in chemischen Produktionsbetrieben vorkommen, möglich. Die im Abwasser vorhandene Materie wird gleichzeitig von den Mikroorganismen als Substrat für den Aufbau neuer Bakteriensubstanz genutzt. Dabei wird ein Teil der Stickstoff- und Phosphorverbindungen als Nährstoffe von den Schlammorganismen aufgebraucht. Die aus allen vorkommenden Stickstoffverbindungen entstehenden Nitrate wirken im Gewässer als Düngesalze und sollten daher nach Möglichkeit ganz aus dem System entfernt werden. Dies geschieht durch kohlenstoffabbauende Bakterien, die infolge eines Sauerstoffmangels den zum Leben notwendigen Sauerstoff von dem Nitrat abspalten. Der durch die Reduktion des Nitrats (Denitrifikation) entstehende Stickstoff entweicht als Gas in die Atmosphäre. Auch die im Abwasser enthaltenen Phosphate müssen aus dem Abwasser entfernt werden, da sie ebenfalls als Pflanzennährstoffe wirken. Neben der Entfernung durch Bakterien werden die Phosphate durch Zugabe von Eisensalzen in schwerlösliche Verbindungen überführt, die in der nachfolgenden Behandlungsstufe abgetrennt werden.

- **Nachklärbecken**

Im Nachklärbecken wird der Bakterien Schlamm durch Absetzenlassen vom Wasser getrennt. Die Schlamm entwässerung wird durch Zugabe von chemischen Zusatzmitteln, wie flockenbildende Salze oder synthetische Flockungsmittel in polymerer Form, gefördert. Dabei werden durch Adsorption von feinsuspendierten Teilchen oder Kolloiden schwerlösliche, persistente Stoffe aus dem Wasser entfernt.

Ein Teil des Schlammes wird als Bakterienlieferant wieder zurück in die Belebungs tanks gebracht, während der Überschussschlamm in einer Schlammbehandlungsanlage für seine Verwertung bzw. Entsorgung vorbereitet wird. Das so behandelte Abwasser ist bis zu 95 % von den sauerstoffverbrauchenden Inhaltsstoffen gereinigt. Jedoch verbleibt ein hoher Anteil an biologischen resistenten Verbindungen, die zum Teil den natürlichen Huminsäuren entsprechen und die durch den Stoffwechsel im Abwasser bzw. in der Behandlungsanlage entstehen. Gerade bei industriellen Abwässern aus chemischen Werken handelt es sich bei den persistenten Stoffen auch um eine Vielzahl von synthetischen, schwerabbaubaren organischen Verbindungen.

1.4 Bestimmung der Schwermetalle nach DIN 38406

Die vorliegende Norm [23] enthält das vom Normenausschuss Wasserwesen (NAW) in DIN und von der Fachgruppe Wasserchemie (GDCh) gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren:

"Bestimmung der 32 Elemente Ag, Al, As, B, Ba, Bi, Cs, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, V, W, Zn und Zr mittels Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) (E 22)".

• Grundlage des Verfahrens

Die Emissionsspektralanalyse ist eine der wichtigsten Methoden zur Multielement -Bestimmung in wässrigen Lösungen. Bei der Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) dient ein Plasma als Anregungsquelle. Die Messlösung wird mit Hilfe eines Zerstäubers in ein Aerosol überführt und durch ein Trägergas in ein induktiv gekoppeltes Plasma transportiert. Nach Anregung der Elemente wird deren Strahlung mit Hilfe eines Spektrometers spektral zerlegt und die Intensitäten der emittierten Strahlung mit Hilfe von Detektoren gemessen. Eine Quantifizierung ist durch Kalibrierung mit Bezugslösungen möglich. Von Vorteil ist hierbei, dass in einem weiten Bereich (mehrere Zehnerpotenzen) ein linearer Zusammenhang zwischen den Intensitäten der Emissionslinien und den Konzentrationen der Elemente besteht. Die Elemente können je nach Bauart des ICP-OES-Gerätes gleichzeitig (simultan) oder nacheinander (sequentiell) bestimmt werden.

• Anwendungsbereich

Das Verfahren der Emissionsspektralanalyse ist grundsätzlich geeignet für die Bestimmung der in DIN 38406 genannten und in dieser Arbeit behandelten Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 0,02 für Nickel und 0,005 mg/l für Zink. Durch schonendes Eindampfen der entsprechend angesäuerten Analysenprobe kann ein Anreicherungsfaktor von 10 erreicht werden. Die Methode bietet die Möglichkeit, die Gesamtkonzentrationen der genannten Elemente in Wässern als auch deren Konzentrationen in Aufschlusslösungen von Schlämmen und Sedimenten zu bestimmen.

• Störungen

Bei der Detektion können spektrale und nicht-spektrale Störungen auftreten. Spektrale Störungen (Überlappung von Spektrallinien) können durch geeignete Wahl der Emissionslinien verhindert werden. Nicht-spektrale Störungen (z. B. ungleicher Massentransport, Ionisationsinterferenzen) können entweder durch Verdünnen der Analysenlösung oder Matrixanpassung von Proben- und Bezugslösung vermieden werden. Durch genügendes Spülen der Probenzuführungseinrichtung werden Verschleppungseinflüsse zwischen den Analysen vermieden.

- **Durchführung**

Zur Bestimmung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei werden Geräte, Chemikalien, Elementbezugslösungen, Blindwert- und Nullwertlösung gemäß DIN 38406 E22 verwendet. Auch die Probenvorbehandlung wird gemäß dieser Norm durchgeführt.

Für die oben genannten Elemente wird folgender Aufschluss verwendet:

100 ml flüssige homogenisierte Probe wird mit 1 ml HNO_3 (Dichte = 1,40 g/ml) und 1 ml H_2O_2 (30 %ig) versetzt. Das Gemisch wird fast bis zur Trocken eingeeengt und der verbleibende Rückstand mit 1 ml HNO_3 aufgenommen und auf 100 ml mit H_2O aufgefüllt. Die Bestimmung der Gesamtkonzentration der Elemente geschieht mittels ICP-OES, wobei vor Beginn der Messung die Stabilität von Spektrometer, Generator und Zerstäubersystem überprüft wird. Nach jeder Messung wird das Zerstäubersystem mit der Nullwertlösung gespült. Die Kalibrierung wird mittels einer Nullwertlösung und einem Multielementstandard (Multielementstandard 23 der Fa. Merck KGaA, Darmstadt) als Bezugslösung mit der Konzentration von 1 mg/l für jeden Analyt durchgeführt. Die Auswertung der Messungen erfolgt intern mit einer mitgelieferten Software des ICP-OES Systems Plasma 40 der Fa. Perkin Elmer Co.-GmbH, Überlingen.

2 Problemstellung

Der Prozess des Wassersparens wird bei der Fa. Merck KGaA durch ein internes Wasser-Management begleitet und koordiniert. Das bedeutet, dass die in einem bestimmten Turnus abgerechneten Wassermengen der Gebäude und insbesondere der Produktionsanlagen auf Plausibilität geprüft werden. Das bedeutet weiter, dass jeder Produktionsleiter für den Wasserverbrauch seiner Anlage verantwortlich ist und einen zu hohen Verbrauch begründen muss. Ein solches Wasser-Management geht weiter, als nur den Aspekt des Wasserverbrauchs zu betrachten. Gerade um betriebliche Abläufe steuern und optimieren zu können, ist es notwendig, Produktionsprozesse bezüglich ihrer Abwässer zu überwachen. Treten z. B. bei Produktionsanlagen, die mit Nickelkatalysatoren arbeiten deutlich erhöhte Nickelkonzentrationen im Abwasser auf, ist das ein Anzeichen für eine Beschädigung der entsprechenden Katalysatoren und ein optimaler Produktionsablauf ist nicht mehr gegeben. Aufgrund der Information über die Zusammensetzung des Abwassers kann dann gezielt und rechtzeitig reagiert werden. Auch Informationen über die Zusammensetzung am Zulauf einer Abwasserbehandlungsanlage sind von erheblicher Bedeutung. Gerade die Toxizität von Schwermetallen und die Beeinflussung bei der biologischen Abwasserreinigung, wie im Fall der Fa. Merck KGaA spielt das eine besondere Rolle. In diesen Fall ist zudem der Zeitaufwand, vor allem im Hinblick auf das rechtzeitige Einleiten von Maßnahmen zur Vermeidung von Störungen ein entscheidender Faktor, den nicht nur die biologische Abwasserreinigung, sondern gegebenenfalls das gesamte Werk betrifft, dann nämlich, wenn nicht mehr das vom gesamten Werk benötigte Volumen Abwasser gereinigt werden kann.

Das bedeutet, dass der Betrieb von Produktionsanlagen immer mehr mit dem Einsatz einer Abwasseranalytik verbunden ist, um das Produkt Abwasser beurteilen zu können.

Die an eine Abwasseranalytik gestellten Anforderungen können nur erfüllt werden, wenn ein den betrieblichen und gegebenenfalls den gesetzlichen Vorgaben entsprechendes Instrumentarium vorhanden ist. Auf Grundlage von gesetzlichen Regelungen wird dem Betreiber einer Abwasserbehandlungsanlage z. B. der Fa. Merck KGaA, von der dafür zuständigen Wasserbehörde ein Erlaubnisbescheid erteilt, in dem die zu bestimmenden Parameter, Analysenverfahren, Probenahmestellen, die Häufigkeit der Bestimmungen und die Überwachungswerte für den entsprechenden Einzelfall für die Einleitung in ein Gewässer festgeschrieben sind [7].

Aufgabe dieser Arbeit war, ein Analysenverfahren zu entwickeln, welches die umweltrelevanten Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei am Zulauf zur Abwasserbehandlungsanlage (ZABA) der Fa. Merck KGaA, Darmstadt bestimmen lässt. Aufgrund der Verfügbarkeit des Analysengerätes ItaChrom EA 101 (Analysengerät zur isotachophoretischen Multi-Elementbestimmung) sollte die Möglichkeit des Einsatzes dieses Analysengerätes zur Bestimmung der genannten Metalle getestet werden.

Trenn- und Anreicherungsverfahren für Elementspuren sind nach wie vor eine wichtige Voraussetzung für die instrumentelle Multielement-Analytik im mg/l- bis µg/l-Bereich. Auch moderne Bestimmungsmethoden

(wie z. B. die Isotachophorese) für die Elementanalyse verschiedener Wasserproben sind auf derartige Probenvorbereitungen angewiesen. Dafür in Betracht kommende Trenn- und Anreicherungsverfahren sollten möglichst einfach, zuverlässig, kompatibel auf eine Vielzahl von Elementspuren einsetzbar sein und nicht zuletzt zeitsparend sein.

Der Arbeitsbereich, in dem das Analysenverfahren verlässliche Werte liefern soll, richtet sich nach vorgegebenen Warnwerten, die am Zulauf zur Abwasserbehandlung gefordert werden (vergleiche Tab. 2).

Die Leistungsfähigkeit des Analysenverfahrens soll an realen Proben getestet werden und gegen ein geeignetes Referenzverfahren evaluiert werden.

| Metallbestimmung nach DIN 38406 | | |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Zulauf ZABA Darmstadt 24 h Probe | Ablauf ZABA Darmstadt 24 h Probe |
| Element | Warnwert (WW) [mg/l] | Überwachungswert (ÜW) [mg/l] |
| Chrom | 0,30 | 0,050 |
| Nickel | 0,15 | 0,100 |
| Kupfer | 0,30 | 0,100 |
| Zink | 5,00 | 2,000 |
| Cadmium | 0,02 | 0,005 |
| Blei | 0,30 | 0,050 |

Tab. 2: Vorgegebene Warn- bzw. Überwachungswerte am Zulauf und Ablauf ZABA Darmstadt 24 h Probe

Zur Zeit werden die zu überwachenden Elemente am Zulauf und am Ablauf der ZABA nach Probenahme von 2 h und 24 h Mischwasserproben nach DIN 38406 bestimmt und mit den vom Abwasserabgabengesetz geforderten bzw. intern festgelegten Warnwerten verglichen. Bei dieser Art der Bestimmung der Schwermetallkonzentrationen ist der Zeitaufwand, der für die Analysen aufgewendet werden muss, nicht unerheblich. Daraus leitet sich die Forderung nach einem Analyseverfahren ab, das ohne größeren Zeitaufwand bis zum Analysenergebnis ein rechtzeitiges Reagieren bei Störungen erlaubt.

Eine weitere Forderung an das zu entwickelnde Analysenverfahren war, dass die Möglichkeit eines mobilen Einsatzes besteht. Das bedeutet, dass das Analysenverfahren nicht stationär installiert werden soll. Des Weiteren muss das Analysenverfahren weitgehend unabhängig arbeiten, das heißt eine aufwendige Probennahme, Probenvorbereitung und eine aufwendige Versorgung mit Chemikalien werden zu vermeiden.

In Zukunft soll das Analysenverfahren möglichst an vielen strategisch wichtigen Orten im Bereich der Fa. Merck KGaA (Abwasserstränge einzelner Betriebe) eingesetzt werden. Das bedeutet, es ist zusätzlich auf den Explosionsschutz und die Mobilität des Analysenverfahrens zu achten. Betriebsbedingte Wassereinsparungen führen zu Überlegungen (seitens der Fa. Merck und der Stadt Darmstadt) die Abwässer der Fa. Merck KGaA, Darmstadt nicht mehr der zentralen Abwasserbehandlungsanlage (Fa. Merck KGaA, Darmstadt), sondern der kommunalen Kläranlage der Stadt Darmstadt zuzuführen. Aufgrund dieser Überlegungen gewinnt die Forderung, das Analysensystem an strategischen Orten einzusetzen an zusätzlicher Bedeutung, um eine umfassende Überwachung des Abwassers zu gewährleisten. Ein nicht zu vernach-

lässiger Aspekt betrifft den Kostenaufwand, der zur Zeit betrieben werden muss, um ein Analysenergebnis zu erhalten. Wie vorher schon erwähnt, werden die Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei zur Zeit nach Probenahme von 2 h und 24 h Mischwasserproben nach DIN 38406 bestimmt. Hier sind aufgrund der Probenahme und der sich anschließenden aufwendigen Analyse die Kosten, die hier nicht aufgeschlüsselt werden können, vor allem wegen des großen Personalaufwandes sehr hoch. Das bedeutet, dass mit Hilfe des Analysenverfahrens die Kosten für die Analysen der vorher genannten Elemente gesenkt werden sollen.

2.1 Die zu untersuchenden Proben

Aufgrund der unterschiedlichen Betriebe der Fa. Merck KGaA, Darmstadt stellt die Zusammensetzung des Abwassers wegen einer Vielzahl von möglichen Störkomponenten hohe Ansprüche an die geforderten Analysenverfahren. Neben den industriellen Abwässern der produzierenden Betriebe, wo zum Teil vorbehandelt wird, werden zusätzlich Abwässer von Gastronomiebetrieben, sanitären Einrichtungen und von der Straßenkanalisation eingeleitet. Bei durchschnittlich 7000 Mitarbeitern und 2000 zusätzlichen Dienstleistern ist der Anteil der nicht produktionsbedingten Abwässer nicht unerheblich. Die Abwassermenge verursacht durch die Straßenkanalisation hängt von der jeweiligen Niederschlagsmenge ab. Tab. 3 gibt einen Überblick, in welchen Bereichen ausgewählte Parameter der verschiedenen Abwasserarten liegen.

| Parameter | Einheit | Zulauf ZABA | Zulauf Biologie | Ablauf T31 | Ablauf ZABA |
|---------------------------------|----------------------|--------------|-----------------|------------|-------------|
| pH | | 3 - 5 | 6,5 - 7,5 | 7 - 8 | 7,5 - 8,0 |
| Leitfähigkeit | 10 ⁻³ S/m | 800 - 2000 | --- | --- | 500 - 1300 |
| CSB | mg/l | 1500 - 4000 | 1000 - 2000 | 90 - 200 | 90 - 165 |
| BSB ₅ | mg/l | 800 - 1700 | 500 - 1100 | 5 - 15 | 3 - 8 |
| NH ₄ ⁺ | mg _N /l | 15 - 50 | 15 - 45 | < 1,5 | < 1,5 |
| NO ₃ ⁻ | mg _N /l | 5 - 40 | --- | --- | < 0,7 |
| NO ₂ ⁻ | mg _N /l | < 0,15 | --- | --- | < 0,5 |
| N _{ges} | mg/l | 50 - 100 | --- | --- | 3 - 7 |
| o-PO ₄ ³⁻ | mg _P /l | 1 - 15 | 2 - 8 | --- | < 1,0 |
| Cl ⁻ | mg/l | --- | --- | --- | 1000 - 3000 |
| SO ₄ ²⁻ | mg/l | --- | --- | --- | 600 - 2500 |
| AOX | mg/l | --- | --- | --- | < 0,8 |
| Cd | mg/l | < 0,002 | --- | --- | < 0,002 |
| Cr | mg/l | < 0,005 | --- | --- | --- |
| Cu | mg/l | < 0,005 | --- | --- | < 0,005 |
| Fe | mg/l | 0,175 - 5,56 | --- | --- | < 1,0 |
| Hg | mg/l | < 0,002 | --- | --- | < 0,0001 |
| Ni | mg/l | < 0,005 | --- | --- | < 0,005 |
| Pb | mg/l | < 0,005 | --- | --- | < 0,005 |
| Zn | mg/l | 0,1 - 0,3 | --- | --- | < 0,03 |

Tab. 3: Abwasserdaten ZABA; "---" bedeutet, dass für diesen Parameter keine Daten erfasst werden; T31 interne Gebäudebezeichnung [24], [25]

Bemerkenswert ist die relativ hohe Leitfähigkeit in Zu- und Anlauf ($800 - 2000$ bzw. $500 - 1300 \cdot 10^{-3} \text{ S/m}$), die vor allem auf den sehr hohen Chlorid- und Sulfatgehalt des Abwassers ($2 - 4 \text{ g/l Cl}^-$ im Zulauf bzw. $1 - 3 \text{ g/l Cl}^-$ im Ablauf; $1 - 2,5 \text{ g/l SO}_4^{2-}$ im Zulauf bzw. $0,6 - 2,5 \text{ g/l SO}_4^{2-}$ im Ablauf) zurückzuführen ist. Der Gehalt an anorganischen Stickstoff setzt sich vorwiegend aus Nitrat und Ammonium zusammen. Der Anteil des anorganischen Stickstoff am Gesamtstickstoff beträgt am Zulauf in der Regel $80 - 90 \%$. Dieser hohe Anteil verschiebt sich aber im Verlauf der Abwasserbehandlung immer mehr zu organischen Stickstoffverbindungen (anorganischer Anteil an Stickstoff im Ablauf $20 - 35 \%$). Betrachtet man die Elimination der abbaubaren organischen Inhaltsstoffe anhand des BSB₅-Wertes (biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen) gelingt diese zu fast 100% . Der CSB (chemische Sauerstoffbedarf) hat sich um etwa 95% verringert.

• Probencharakterisierung und Probenahme

Die Probenahme erfolgte automatisch und durchflussproportional, d. h. es wurden konstante Probenvolumina in variablen Zeitintervallen entnommen. Über einen festgelegten Zeitraum der Entnahme wurden repräsentative Mischproben erhalten. Die Proben wurden in braunen 1Liter -Glasflaschen bei ca. 4° C aufbewahrt. Das äußere Aussehen, vor allem die Farbe der Proben variierte je nach Entnahmezeitpunkt. Die unterschiedliche Färbung der Proben ist auf die mehr oder weniger hohe Konzentrationen an Indikatoren zurückzuführen. Der meist faulige und fäkalische Geruch ist auf die Entwicklung von H_2S durch Bakterien unter anaeroben Bedingungen zurückzuführen.

Die realen Proben stammen aus folgenden Entnahmestellen:

| Entnahmestelle | Probenart |
|--|--------------------------|
| Zulauf ZABA T55 (interne Gebäudebezeichnung) | 24 h und 2 h Mischproben |
| Ablauf T31 | 24 h Mischproben |

| Probeentnahme | Farbe | Feststoffanteil | pH-Wert | Geruch |
|---|-------------------------------|--|---------|-------------------|
| Zulauf ZABA T55 | gelbbraun, grünbraun, rötlich | fast klar bis schwach trüb, geringer Feststoffanteil | 2-4 | faulig, fäkalisch |
| Ablauf T31 (interne Gebäudebezeichnung) | schwach gelblich | fast klar | 2-4 | geruchlos |

Tab. 4: Probenahme und Charakterisierung der realen Abwasserproben; Zulauf ZABA (T55) Rohabwasser nach Filtration; Ablauf ZABA (T31) nach Schönungsteich

Die Probenahme erfolgte automatisch und es wurden konstante Probenvolumina (1Liter) in einem Zeitraum von Mai 97 bis Juli 98 entnommen.

3 Theoretischer Teil

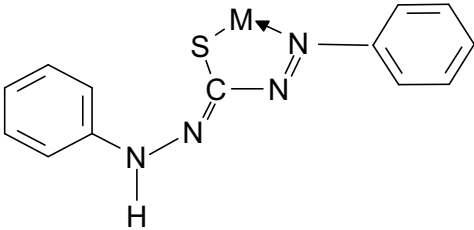
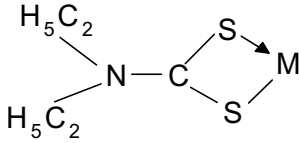
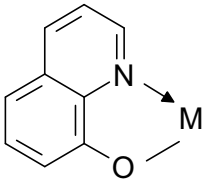
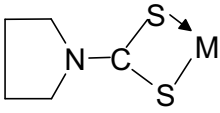
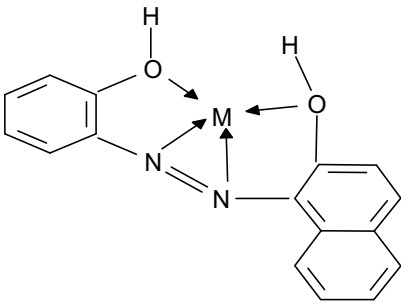
3.1 Spuren-Matrix-Trennung an metallselektiven Sorbentien

Die an die chemische Industrie in Hinblick auf den Umweltschutz und im besonderen der damit verbundenen Abwasseranalytik gestellten Anforderungen haben in den letzten Jahren stark zugenommen. Diese Tatsache erfordert die Entwicklung neuer Analysenmethoden, die je nach Einsatz und Qualitätsansprüchen mehr oder weniger aufwendige Probevorbereitungen erfordern. Deswegen gewinnen Verfahren zur Spuren-Matrix-Trennung auch in der Abwasseranalytik immer mehr an Bedeutung. Durch die selektive Abtrennung einer Matrix werden einerseits mögliche Störungen bei der analytischen Bestimmung vermieden, andererseits wird dadurch eine Anreicherung der zu bestimmenden Spezies erreicht. Deren Nachweisgrenze, welche eines der Kriterien zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit eines Analysenverfahrens ist, wird dadurch erheblich verbessert. Eine Abtrennung und Anreicherung der zu bestimmenden Spezies kann grundsätzlich durch Fällung, durch selektive Komplexbildung und Extraktion oder durch Ionenaustausch erfolgen. Vielversprechende Ansätze bieten zum einen die Extraktion über Komplexbildung der Metallionen an Chelatbildnern (z. B. Cellulose Hyphan, Fa. Riedel-de Haen) oder die Abtrennung und Anreicherung an Kationenaustauschern (Ionenaustauscher I, Fa. Merck KGaA). Eine weitere, etwas unkonventionellere Art der Spuren-Matrix-Trennung ist die Kombination aus Komplexbildung an Chelatbildnern und Anreicherung an Kationenaustauschern. Grundsätzlich müssen für die Applikation einer solchen Spuren-Matrix-Trennung an Festphasen folgende Kriterien erfüllt sein [27]:

- Selektivität bezüglich der Analyten,
- hohe Anreicherungskapazitäten,
- quantitative oder reproduzierbare Anreicherung der entsprechenden Analyten,
- einfache Elution der gebundenen Analyten mit geringem Elutionsvolumen,
- das Eluat soll den Analyten in stabiler Form enthalten und eine direkte Bestimmung der Elemente mit instrumentellen Analyseverfahren erlauben,
- Stabilität des Trägermaterials im pH-Wert-Bereich, der für die Komplexbildung und Elution der Kationen benötigt wird,
- Robustheit der Austauscher (ideal wiederverwendbar),
- geringe und reproduzierbare Blindwerte zum Erreichen niedriger Nachweisgrenzen.

3.1.1 Anreicherung an festgebundenen Komplexbildnern

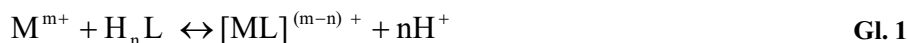
Die Komplexbildung der Elementspuren erfolgt an einer Gruppe, die an anorganischen oder organischen Trägermaterialien gebunden ist. Als chelatbildende (komplexierende Gruppe) Reagenzien dienen organische Verbindungen, bei denen die funktionellen Gruppen N-, O-, oder S-Atome enthalten. In Tab. 5 sind einige der wichtigsten Vertreter dieser Verbindungsklassen aufgeführt, die eine Extraktion ermöglichen.

| Verbindung | Gebildeter Metallkomplex | extrahierbare Elemente |
|---|---|---|
| 1,5-Diphenylthio-carbazon (Dithizon) |  | V, Cr, Fe, Cs, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, In, Sn, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, U |
| Diethylammonium-dithiocarbamat (DADC) |  | V, Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Ga, Ge, As, Se, Mo, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi |
| 8-Hydroxichinolin (Oxin) |  | Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Cd, In, Sn, Sb, Ba, La, Hf, W, Hg, Tl, Pb, Bi, Ce, Nd, Sm, Er, Th, Pa, U, Pu |
| Ammoniumpyrrolidin-dithiocarbamat (APDC) |  | Mn, Fe, Co, Ni, Ni, Zn, Ga, Pd, As, Cd, In, Sn, Te, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po |
| 1-(2-Hydroxyphenylazo)-2-naphtol |  | Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Cd, In, Sn, Sb, Ba, La, Hf, W, Hg, Tl, Pb, Bi, Ce, Nd, Sm, Er, Th, Pa, U, Pu, La, Hg |

Tab. 5: Chelatbildende Reagenzien [28]

Die Extraktion beruht auf der Bildung stabiler Chelatkomplexe die in organischen Phasen löslich sind. Die Chelatbildner gehen über mehrzählige Liganden koordinative σ -Bindungen mit freien d-Orbitalen der Übergangsmetalle ein. Alkali- bzw. Erdalkalimetalle können lediglich über elektrostatische Kräfte (Coulomb-Kräfte) an den Chelataustauscher gebunden werden. Die Bindungsenergien sind mit 8 bis 12 kJ/mol nur gering im Vergleich zu den koordinativen Metall-Chelat Bindungen (60 bis 100 kJ/mol).

Chelatbildende Kationenaustauscher tragen in der Regel eine schwache Säurefunktion, daher ist die Komplexbildung vom pH-Wert abhängig.



Über das Massenwirkungsgesetz wird die Gleichgewichtskonstante der Reaktion beschrieben:

$$K = \frac{[ML]^{(m-n)+} \cdot [H^+]^n}{[H_n L] \cdot [M]^{m+}} \quad \text{Gl. 2}$$

K = Komplexbildungs- oder Stabilitätskonstante; $H_n L$ = Ionenauschers; M_{aq} = hydratisierter Metallkomplex

Die Komplexbildungskonstante K ist ein Maß für die Stabilität des Chelatkomplexes bei bestimmtem pH-Wert und Temperatur. Da Chelatkomplexe besonders stabil sind und daher sehr große K -Werte besitzen, werden ihre Stabilitätskonstanten häufig in Form der positiven dekadischen Logarithmen ihrer Zahlenwerte angegeben ($pK = \lg K$). Aus Gl. 2 ergibt sich durch logarithmieren folgende Gleichung:

$$\lg K = \lg \frac{[ML]^{(m-n)+}}{[H_n L] \cdot [M]^{m+}} - n \cdot pH \quad \text{Gl. 3}$$

Aufgrund der beschriebenen Chelatbildung über freie d-Orbitale lassen sich Übergangsmetalle von Alkali- und Erdalkalimetalle trennen. Die Unterschiede der Komplexbildungskonstanten für die gebildeten Metall-Chelatkomplexe sind ein Maß für die Selektivität der verwendeten Ionenaustauscher bezüglich der entsprechenden Metallionen [33].

Neben der Anreicherung und Abtrennung von Elementspuren aus verschiedenen Matrices mit Hilfe von Chelatbildnern über eine Flüssig-Flüssig-Extraktion lässt sich eine Spuren-Matrix-Trennung auch über eine Festphasenextraktion realisieren. Die Komplexierung der Elementspuren erfolgt dabei an komplexbildenden Gruppen, die an anorganische oder organische Trägermaterialien gebunden sind. Als Trägermaterialien lassen sich polymere Verbindungen wie Cellulose, Kieselgel oder Polystyrol verwenden. Die Synthese von Austauschern, deren chelatbildende Gruppen über kovalente Bindungen an das Trägergerüst gebunden sind, hat sich als schwierig und zeitaufwendig erwiesen. Man ging dazu über, neue Festphasen mit chelatbildenden Eigenschaften auf Basis konventioneller Anionenaustauscherharze oder unpolarer Sorbentien zu entwickeln (siehe Tab. 6). Durch Ionenaustausch und/oder Adsorption werden die komplexierenden Reagenzien an das Trägermaterial gebunden.

Durch unterschiedliche Modifikationen der immobilisierten Ankergruppen können adsorbierende und chelatbildende Eigenschaften kombiniert werden. Diese mit Liganden (ligand loaded) beladenen Austauscher können mit einer ganzen Reihe von Kationen Chelatkomplexe bilden. Die Stabilität der gebildeten Metallkomplexe wird, wie vorher schon erwähnt im wesentlichen von den chelatbildenden und experimentellen Bedingungen (pH-Wert) bestimmt [28, 29, 30, 31, 32, 33, 34]. Für die Durchführung einer Spuren-Matrix-Trennung sind eine ganze Reihe von festphasengebundenen Chelatbildnern entwickelt. Diese sind

kommerziell in loser Form oder gepackten Säulen erhältlich. Tab. 6 beschreibt einige dieser kommerziell erhältlichen Produkte.

| Produktname | Trägermaterial | chelatbildende Gruppe |
|---|------------------------------------|------------------------------------|
| MetPac TM CC-1 Fa. Dionex | Polystyrol-Divenylbenzol-Copolymer | Iminodiessigsäure |
| Chelex-100 [®] Fa. BioRad | Polystyrol-Divenylbenzol-Copolymer | Iminodiessigsäure |
| Dowex A-1 [®] Fa. Dow Chemicals | Polystyrol-Divenylbenzol-Copolymer | Iminodiessigsäure |
| Amberlite XAD-4 Fa. SERVA | Kieselgel | 8-Hydroxychinolin |
| Trace Con [®] Fa. Knapp | Cellulose | Ethylendiamintriessigsäure (EDTrA) |
| Hyphan [®] Riedel-de Haen | Cellulose | 1-(2-Hydroxyphenyl-lazo)-2-naphtol |

Tab. 6: Festphasengebundene Chelatkomplexbildner

3.1.2 Spuren-Matrix-Trennung mit Hilfe konventioneller Ionenaustauscher

Ionenaustauscher sind feste, schwerlösliche, hochmolekulare Polyelektrolyte mit funktionellen Gruppen, die eine Ladung, die durch Gegen-Ionen neutralisiert wird, tragen. Da diese heteropolar gebundenen Gegen-Ionen durch Ionen gleicher Ladung ausgetauscht werden können, kann man Ionenaustauscher auch als hochmolekulare Säuren bzw. Basen betrachten, die zum H^+ - bzw. HO^- -Austausch fähig sind. Die gebräuchlichsten Ionenaustauscher sind monofunktionell. Je nach Art der monofunktionellen Gruppe unterscheidet man zwischen Kationen- bzw. Anionenaustauscher. Passend zum Charakter der auszutauschenden Ionen gibt es schwach und stark dissoziierte Austauscher. Man spricht daher von schwach- und starksauren Kationenaustauschern bzw. schwach- und starkbasischen Anionenaustauschern. Die Totalkapazität eines Austauschers wird rechnerisch als die Summe der am Austauscher gebundenen funktionellen Gruppen erfasst, allerdings lässt sich in der Praxis nur ein begrenzter Teil davon ausnutzen. Der Ionenaustausch wird in der Regel in wässrigen Lösungen angewandt. Der Ionenaustausch verläuft stöchiometrisch und ist meist reversibel. Da der Ionenaustausch nicht auf Adsorption beruht, stellt sich in dem System Ionenaustauscher/wässrige Lösung rasch ein Gleichgewicht ein, d. h. die Ionenaustauschvorgänge unterliegen dem Massenwirkungsgesetz. Unter Beladung des Austauschers versteht man die Anreicherung von Ionen am Austauscher. Den umgekehrten Vorgang nennt man Regeneration. Dabei werden die aufgenommenen Ionen vom beladenen Austauscher mit Säure bzw. Base eluiert. Das entstehende Eluat enthält dann z. B. Metall-Ionen und der Austauscher trägt wieder seine ursprüngliche austauschbare Ionenart. Adsorberharze haben den gleichen Grundkörper wie Ionenaustauscher und tragen in der Regel keine funktionelle Gruppen. Die Matrix (Grundkörper) der festen Ionenaustauscher besteht vielfach aus einem mit Polyvinylaromaten vernetzten Polystyrol oder Polyacrylat (Copolymerisate). Das Makromolekül stellt ein dreidimensionales Netzwerk mit winzigen Poren dar, das wegen der Vernetzung seine thermoplastischen Eigenschaften verloren hat. In diesem porösen Netzwerk und an seiner Oberfläche sitzen die ionisierbaren funktionellen Gruppen. Moderne Ionenaustauscher zeich-

nen sich durch hohe mechanische und chemische Stabilität aus. Die handelsüblichen Ionenaustauscher sind meist kugelförmig und haben einen Durchmesser zwischen 0,3 und 1,2 mm. Sie enthalten je nach Austauschertyp zwischen 50 und 65 % Wasser. Bei einer Änderung des Wassergehaltes quellen oder schrumpfen die Kugeln reversibel. In der Regel haben die Copolymerisate gelartigen Charakter. Beim Einfügen der funktionellen Gruppen werden sie hydrophil und nehmen dabei erhebliche Mengen an Wasser auf. Der Ionentransport und damit der Ionenaustausch wird dadurch bis in das Innere der Kugeln begünstigt. In der Praxis werden Kationenaustauscher mit Sulfonsäure-Gruppen ($-\text{SO}_3\text{-H}^+$) oder Carbonsäure-Gruppen ($-\text{COO-H}^+$) eingesetzt. Ihre Selektivität für Kationen ist wenig ausgeprägt. Anionenaustauscher sind Copolymerisate mit vornehmlich Amino-Gruppen. Solche mit tertiären Amino-Gruppen sind schwachbasisch und binden ohne ausgeprägte Selektivität Chlorid-, Sulfat-, Nitrat- und Chromat-Ionen sowie komplexe Cyanide. Starkbasische Anionenaustauscher haben z. B. eine quartäre Amino-Gruppe und binden auch Ionen schwacher Säuren, wie z. B. Borsäure-Ionen. Adsorberharze sind makroskopische Copolymerisate, die sowohl ohne funktionelle Gruppen als auch mit aktiven Gruppen eingesetzt werden. Die Adsorberharze mit aktiven Gruppen können nichtionogene und/oder ionogene organische Wasserinhaltsstoffe adsorbieren. Man benutzt sie, um auf diese Weise nachgeschaltete Ionenaustauscher vor dem Verschmutzen durch organische Inhaltsstoffe zu schützen [31, 32, 34].

3.1.3 Statisches und dynamisches Verfahren

Werden die entsprechenden Austauscher (insbesondere die chelatbildenden Austauscher) in loser Form zu einem definierten Volumen einer gepufferten Probelösung gegeben, so spricht man von einem statischen Verfahren. Die dabei entstehende Suspension wird durch Schütteln durchmischt und nach erfolgtem Ionenaustausch oder Komplexierung der Elementspuren wird die feste Phase durch Filtration abgetrennt. Die zugehörigen Elementspuren können anschließend über Elution mit verdünnter Mineralsäure abgetrennt und mit den entsprechenden Analysenmethoden quantitativ bestimmt werden. Der Vorteil einer solchen Batch-Methode liegt in der relativ einfachen Handhabung, sowie in der Multielementfähigkeit. Der entscheidende Nachteil ist die Schwierigkeit, ein solches Verfahren zu automatisieren.

Bei dynamischen Verfahren erfolgt die Spuren-Matrix-Trennung in gepackten Säulen. Dabei wird die Probelösung an den chelatbildenden Austauscher bzw. konventionellen Austauschern (stationäre Phase) mit einer konstanten Flussrate vorbeigeführt. Nach Matrixabtrennung und Anreicherung wird die Säule mit einer Waschlösung (meist H_2O) gespült, anschließend werden die angereicherten Elementspuren mit einer Mineralsäure (Striplösung) eluiert, und das Eluat instrumentell analytisch untersucht. In Abb. 2 wird das Grundprinzip einer solchen dynamischen Spuren-Matrix-Trennung schematisch dargestellt. Die beschriebene Technik erlaubt eine effiziente Anreicherung der Elementspuren und einen Einsatz großer Probenvolumina, die hohe Anreicherungsfaktoren zulassen.

Der Vorteil liegt in der Automatisierbarkeit des Verfahrens mit vor allem praxiserprobten Bauteilen aus der Chromatographie (peristaltische Pumpen, Hochdruckpumpen, Ventile u. a.) und durch vorhandene Steuer-

module. Damit lässt sich ein wichtiges Kriterium, die Automatisierung für den Einsatz in der Routine - bzw. Überwachungsanalytik besser als mit der Batch-Methode erfüllen.

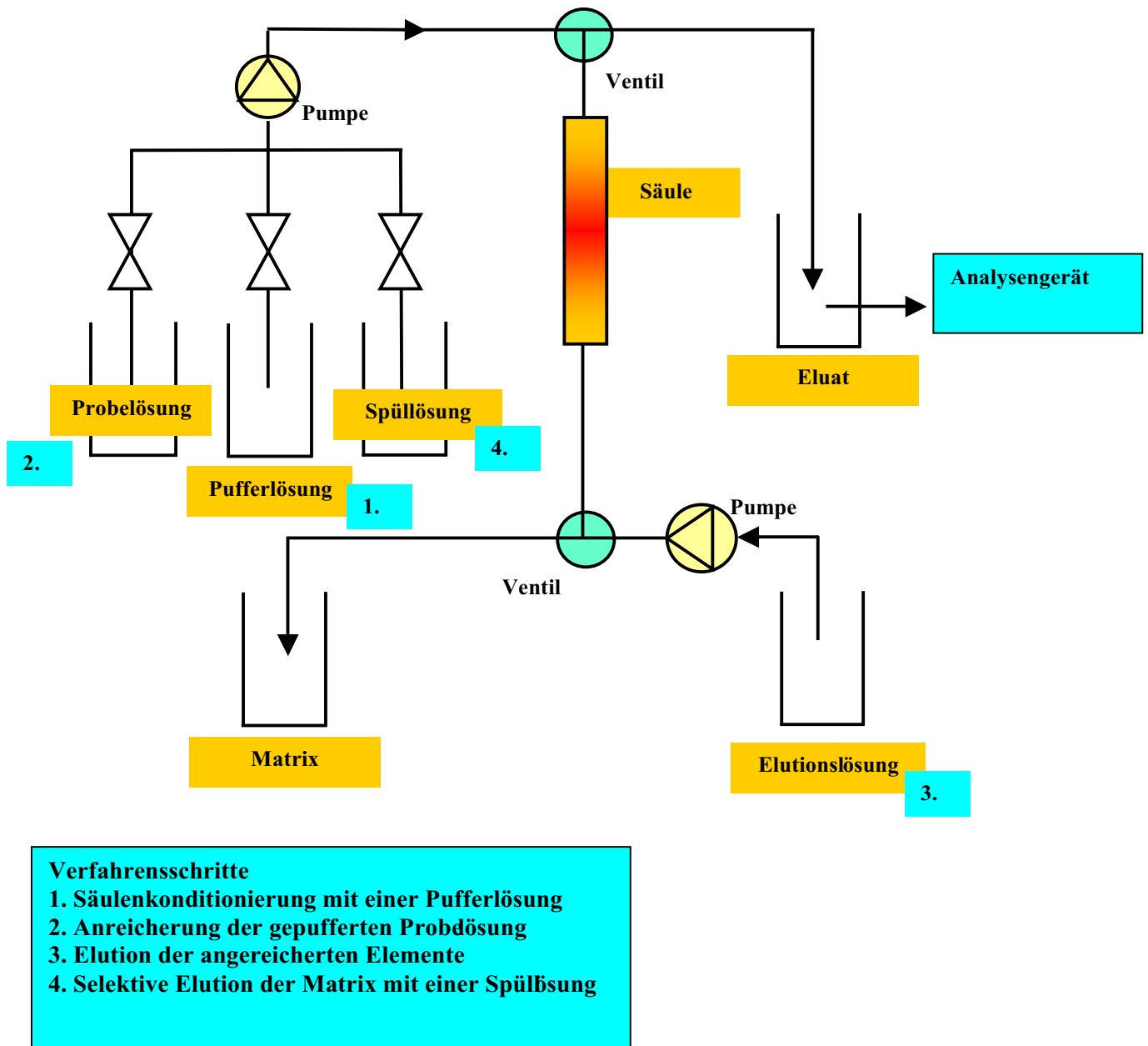


Abb. 2: Schematische Darstellung der Spuren Matrix Trennung durch Festphasenextraktion

Grundsätzlich lässt sich unterscheiden zwischen:

- Anreicherung von Spurenelementen, um eine ausreichende Empfindlichkeit zu erreichen.
- Abtrennung einer störenden Matrix bei gleichzeitiger Anreicherung der zu bestimmenden Analyten.

Dafür stehen automatisierte Systeme auf Grundlage verschiedener Techniken zur Verfügung:

- Systeme mit peristaltischen Pumpen, die nach dem Arbeitsprinzip der Fließinjektionsanalyse (FIA) arbeiten und Mineralsäuren zur Anreicherung enthalten. Bei der FIA wird ein vorgegebenes Probenvolumen in einen kontinuierlich fließenden Flüssigkeitsstrom (Trägerstrom) z. B. Reagenzlösung injiziert. Die Probe wird vom Flüssigkeitsstrom mitgeführt, es kommt zu einer Vermischung von Probe und Reagenzstrom durch Konvektion und Diffusion. Diese Durchmischung, Voraussetzung für die Umsetzung der Analyten zu einem detektierbaren Reaktionsprodukt, ist jedoch nicht homogen und muss nicht unbedingt einen Gleichgewichtszustand erreichen.
- HPLC-Systeme mit chelatbildenden Säulenmaterial, wie die Chelation Unit von der Fa. Dionex.
- Anreicherungssysteme mit steuerbaren peristaltischen Pumpen wie z. B. das Tracecon[®] der Fa. Knauer, das mit Säulen, die mit Extra-Cellulose oder HS₀₃-Oxin-Cellulose als chelatbildende Phase arbeitet.

Alle Systeme lassen sich in off-line Verfahren einsetzen aber auch für einen on-line Betrieb direkt mit einem Analysengerät (AAS, ICP-OES, ICP-MS) verwenden [28, 34, 35, 36].

3.2 Grundlagen der Isotachophorese

Das Wort Isotachophorese setzt sich zusammen aus den griechischen Begriffen: *isos* = gleich und *tachos* = Geschwindigkeit.

Die theoretischen Grundlagen der Isotachophorese reichen zurück bis in das vorherige Jahrhundert und ihre Richtigkeit wurden durch die *beharrliche Funktion* von Kohlrausch 1897 bestätigt [41]. Das Prinzip der elektrophoretischen Trennverfahren beruht auf den unterschiedlichen Mobilitäten der Analyten in Elektrolytlösungen unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes.

| Methode | Trenneigenschaft | Triebkraft | Anwendung |
|---|--|---|--------------------------------------|
| Isotachophorese (ITP) | Mobilität | elektrisches Feld | ionische Verbindungen |
| Kapillarzonenoelektrophorese CZE) | Mobilität | elektrisches Feld | ionische Verbindungen |
| Kapillargelelektrophorese (CGE) | Molekülgröße | Gelstruktur, Siebeffekt | hochmolekulare ionische Verbindungen |
| Isoelektrische Fokussierung (IEF) | Isoelektrische Punkte | pH-Gradient | Ampholyte |
| Mizellare-Elektrokinetische Kapillar-Chromatographie (MEKC) | Wechselwirkung mit der Mizelle | Verteilungsgleichgewicht, elektrisches Feld | neutrale Verbindungen |
| Kapillarelektrochromatographie (CEC) | Wechselwirkung mit der stationären Phase | Verteilungsgleichgewicht, elektrisches Feld | neutrale Verbindungen |

Tab. 7: Elektrophoretische Trennverfahren

Die Grundlagen über die Bewegung geladener Teilchen im elektrischen Feld wurden zu Beginn des Jahrhunderts erarbeitet. Leonor Michaelis führte 1909 erstmals den Begriff der Elektrophorese ein [42]. Der Einsatz von elektrophoretischen Verfahren zur Trennung und Bestimmung von geladenen Spezies für analytische Zwecke war aufgrund der Wärmeentwicklung, die während der Elektrophorese auftritt, nicht möglich. Die auftretende Joulesche Wärme führt zu Konvektionsströmungen in der Lösung und verhindert so eine vollständige Trennung. Durch den Einsatz von Trägermaterialien wie z.B. Papier wurde die Elektrophorese für analytische Fragestellungen interessant [42]. Allerdings erwies sich die aufwendige Handhabung der Trägermaterialien und die beschränkten Möglichkeiten der Detektion als problematisch. Erst die Einführung der elektrophoretischen Trennung in Kapillaren mit kleinen Innendurchmessern führte zu Trennungen mit außergewöhnlicher Effizienz und legten so die Grundlagen der kapillarelektrophoretischen Trennmethode. Eine solche Vorgehensweise ist erstmals 1965 von Teselius und Hjerten in Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 3 mm durchgeführt und von Hjerten 1967 in Kapillaren mit geringeren Innendurchmessern weiterentwickelt worden [44, 45]. Zur gleichen Zeit begann Everaerts mit seinen Arbeiten zur Entwicklung der Isotachophorese als analytischen Trennmethode [46, 47]. Die Entwicklung geeigneter Detektoren (ein UV-Detektor 1970 durch Arlinger und Routs und einem Leitfähigkeitsdetektor 1972 von Verheggen) und die Vielzahl der heute zur Verfügung stehenden Detektionsmöglichkeiten, die Auswahl automatisierter Probeaufgabesysteme und verschiedener Probevorbereitungsverfahren etablierte die Isotachophorese zu einem konkurrenzfähigen Analyseverfahren. Die schwedische Firma LKB und die japanische Firma Shimadzu stellten Mitte der siebziger Jahre die ersten kommerziellen Geräte her [48, 49]. Das Anwendungsgebiet der Methode erstreckt sich heute auf die Bestimmung anorganischer und organischer Ionen in unterschiedlichen Matrices wie pharmazeutische Wirkstoffe, Peptide und Proteine.

3.2.1 Konzept der Mobilität

Die Kraft f , die auf ein Teilchen im elektrischen Feld wirkt, ist proportional zur Stärke des elektrischen Feldes (E).

$$f = z \cdot e \cdot E \quad [\text{C Vm}^{-1}] \quad \text{Gl. 4}$$

z = Ladungszahl; e = Elementarladung [$1,60219 \cdot 10^{-19} \text{ C}$]; E = elektrische Feldstärke [Vm^{-1}]

Dieser Kraft ist die Reibungskraft f , die nach Stokes für ein kugelförmiges Teilchen in einer Flüssigkeit nach Gl. 5 beschrieben wird, entgegengesetzt.

$$f = 6 \cdot \pi \cdot r \cdot v \cdot \eta \quad [\text{kg m s}^{-2}] \text{ bzw. } [\text{N}] \quad \text{Gl. 5}$$

η = Viskosität [$\text{kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$]; r = Radius des Teilchens [m]; v = Geschwindigkeit des Teilchens [m s^{-1}]

Im Gleichgewicht bewegt sich das Teilchen im elektrischen Feld mit der Geschwindigkeit v , die einem Potentialgradienten entlang eines Migrationsweges entspricht, durch die Lösung.

$$v = \frac{z \cdot e \cdot E}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad [\text{m s}^{-1}] \quad \text{Gl. 6}$$

Die Umformung von Gl. 6 führt zu einer von apparativen Bedingungen unabhängigen Größe, der Mobilität μ .

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot r} \quad [\text{V}^{-1} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}] \quad \text{Gl. 7}$$

μ = Mobilität [$\text{V}^{-1} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$]

Die Mobilität stellt eine charakteristische physikalische Größe für eine Ionenart dar. Die Mobilitäten der meisten Ionen bewegen sich in der Größenordnung von 10^{-8} bis 10^{-9} [$\text{V}^{-1} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$].

Eine isotachophoretische Trennung von Ionen kann nur erfolgen, wenn unter den gegebenen Bedingungen die Ionen unterschiedliche Mobilitäten besitzen. Die absolute Mobilität ist zugänglich aus der Ionenäquivalentleitfähigkeit Λ und wird nach Gl. 8 berechnet.

$$\mu_0 = \frac{\Lambda}{F} \quad [\text{V}^{-1} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}] \quad \text{Gl. 8}$$

μ_0 = absolute Mobilität; Λ = Ionenäquivalentleitfähigkeit [$\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$]; F = Faradaykonstante 96487 C mol^{-1}

Der aus der Ionenäquivalentleitfähigkeit berechnete Wert für die absolute Mobilität hat nur Gültigkeit, wenn es keine Wechselwirkungen mit anderen Ionen gibt. Diese Mobilität entspricht der absoluten Mobilität μ_0 für ein isoliertes Ion.

• Aktuelle Mobilität

Die bisherigen Überlegungen für die Beschreibung der Mobilität sind nur gültig für isolierte ionische Komponenten in Lösungen (keine interionische Wechselwirkungen und unendliche Verdünnung). Da Ionen in der Praxis einer elektrophoretischen Trennung durch eine Elektrolytlösung endlicher Konzentration wandern, kann deren Bewegung nicht alleine durch die Kenntnis der Ionenbeweglichkeiten bzw. ihrer absoluten Mobilität vorhergesagt werden.

Die Debye-Hückel-Theorie beschreibt die interionischen Wechselwirkungen in realen Lösungen [56]. Entgegengesetzt geladene Ionen ziehen sich an, deshalb sind Kationen und Anionen in Lösungen nicht gleichmäßig verteilt, sondern man findet in der Nähe eines gegebenen Ions einen Überschuss an Ionen entgegengesetzter Ladung.

Im Mittel wandern mehr Gegenionen als Ionen gleicher Ladung an einem gegebenen Ionen vorbei. Die zeitlich gemittelte kugelsymmetrische Hülle aus Gegenionen nennt man Ionen-Atmosphäre. Legt man an eine Ionenlösung ein elektrisches Feld, bewegen sich die Ionen in eine bestimmte Richtung. Allerdings reagiert die Ionen-Atmosphäre nicht unmittelbar auf die Bewegung des Ions, auf der Vorderseite des wandernden Ions wird sie immer noch im Aufbau sein, während sie auf der Rückseite noch nicht vollständig zerfallen ist. Letztendlich kommt es zu einer Deformation der Ionen-Atmosphäre, bei der das Ladungszentrum hinter dem wandernden Ion zurückbleibt.

Man nennt das Relaxationseffekt, weil es sich beim Auf- und Abbau der Ionen-Atmosphäre um eine Relaxation in eine neue Gleichgewichtslage handelt. Weiterhin unterliegt ein Ion bei seiner Wanderung der inneren Reibung, die auf die Viskosität der Lösung zurückzuführen ist.

Eine Ionen-Atmosphäre verstärkt diesen Effekt noch, weil die Ionen der Ionen-Atmosphäre in entgegengesetzter Richtung wandern. Mit zunehmender Konzentration der Elektrolytlösung kommen Relaxationseffekt und elektrophoretischer Effekt immer mehr zum Tragen und es kommt zu einer Verminderung der Mobilität. Folglich ist die Mobilität eines Ions von dem Einfluss der Ionenstärke abhängig. Die dimensionslose Ionenstärke eines Elektrolyten ist gegeben nach [56]:

$$j = \frac{1}{2} \sum \frac{c_E}{m_{\text{Standard}}} \cdot z_E^2 \quad \text{Gl. 9}$$

j = Ionenstärke [mol l^{-1}]; c_E = Konzentration des Ions E [mol l^{-1}]; m_{Standard} = Standardmolalität [1 mol l^{-1}]; z = Ladungszahl des Ions E

Neuere Untersuchungen beschreiben den Einfluss der Ionenstärke in einer Elektrolytlösung nicht mehr vollständig nach der Debye-Hückel-Theorie, sondern führen einen experimentell verifizierten Korrekturfaktor k ein [58, 59]. Daraus ergibt sich die aktuelle Mobilität μ_{act} aus der absoluten Mobilität zu:

$$\mu_{\text{act}} = k \cdot \mu_0 \quad [\text{V}^{-1} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}] \quad \text{Gl. 10}$$

k = dimensionsloser Korrekturfaktor

In schwachen Elektrolyten liegen die dissoziierten und undissoziierten Formen der ionischen Verbindung im Gleichgewicht vor. Das Ausmaß der Ionisierung wird über den Dissoziationsgrad α in Abhängigkeit von pH- und pK_s -Wert bestimmt.

$$\alpha = \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_s}} \quad \text{Gl. 11}$$

Für schwache Elektrolyte und amphotere Verbindungen ist demnach die aktuelle Mobilität μ_{act} eine Funktion des Dissoziationsgrades α , des pK_s -Wert und des pH-Wertes des Elektrolytmediums.

Daraus ergibt sich dann die effektive Mobilität μ_{eff} zu:

$$\mu_{\text{eff}} = \mu_{\text{act}} \cdot k \cdot \alpha \quad [\text{V}^{-1} \text{m}^2 \text{s}^{-1}] \quad \text{Gl. 12}$$

Der Korrekturfaktor k ist eine Funktion der Ionenstärke j und beschreibt die Abweichung der aktuellen Mobilität μ_{act} in Lösungen endlicher Konzentration (bei der Ionenstärke j der Elektrolytlösung) vom idealen Verhalten bei unendlicher Verdünnung (absolute Mobilität μ_0).

Die effektive Mobilität μ_{eff} einer Substanz kann somit aus der absoluten Mobilität μ_0 und ihrem pK_s -Wert nach Gl. 13 berechnet werden.

$$\mu_{\text{eff}} = \frac{1}{1 + 10^{\text{pK}_s - \text{pH}}} \cdot 10^{-0,77\sqrt{jz}} \mu_0 \quad [\text{V}^{-1} \text{m}^2 \text{s}^{-1}] \quad \text{Gl. 13}$$

Die Werte der beiden physikalischen Größen μ_0 und pK_s können für viele Ionen aus Literaturdaten entnommen werden. Auch die Temperatur ist eine wichtige beeinflussende Größe der Ionenbeweglichkeit.

Eine Temperaturerhöhung um 10 K des Elektrolytmediums bewirkt eine etwa 20 % höhere Mobilität der Ionen. Der Temperatureinfluss auf die Mobilitäten wird näherungsweise durch Gl. 14 beschrieben [60, 61] :

$$\mu(T) = \mu(T_0) \cdot [1 + k_T (T - T_0)] \quad \text{Gl. 14}$$

T = Temperatur [K]; T_0 = Standardtemperatur [298 K]; k_T = Korrekturfaktor [K^{-1}]

3.2.2 Trennprinzip der Isotachophorese

Die Isotachophorese arbeitet mit einem diskontinuierlichen Elektrolytssystem. Die Analytione befinden sich zwischen einem Leitelektrolyten (Leading) mit hoher Mobilität und einem Folgeelektrolyten (Terminat ion) mit der geringsten Mobilität des Gesamtsystems.

Wird eine Spannung angelegt, eilen die schnelleren Leit ionen den langsameren Analytione und den Folge ionen voraus. Wegen der Forderung nach gleichem Stromtransport an allen Stellen im System kann eine Ionenlücke nicht entstehen. Die Folge ist eine Trennung der Analytione in homogene, diskrete Zonen. Die diskreten Zonen folgen mit uniformer Geschwindigkeit unmittelbar hintereinander. Abb. 3 veranschaulicht die Trennung zweier Komponenten A und B.

Zum Zeitpunkt t_0 nach der Injektion der Komponenten A und B beim Anlegen eines elektrischen Feldes E beginnt die isotachophoretische Trennung. Die Breite der Mischzone aus den Komponenten A und B vom Zeitpunkt t_1 bis t_3 nimmt mit voranschreitender Dauer der isotachophoretischen Trennung ab. Beim Erreichen des stationären Zustandes zum Zeitpunkt t_4 ist die Trennung abgeschlossen und es existieren nur noch die beiden Zonen der vollständig getrennten Substanzen A und B.

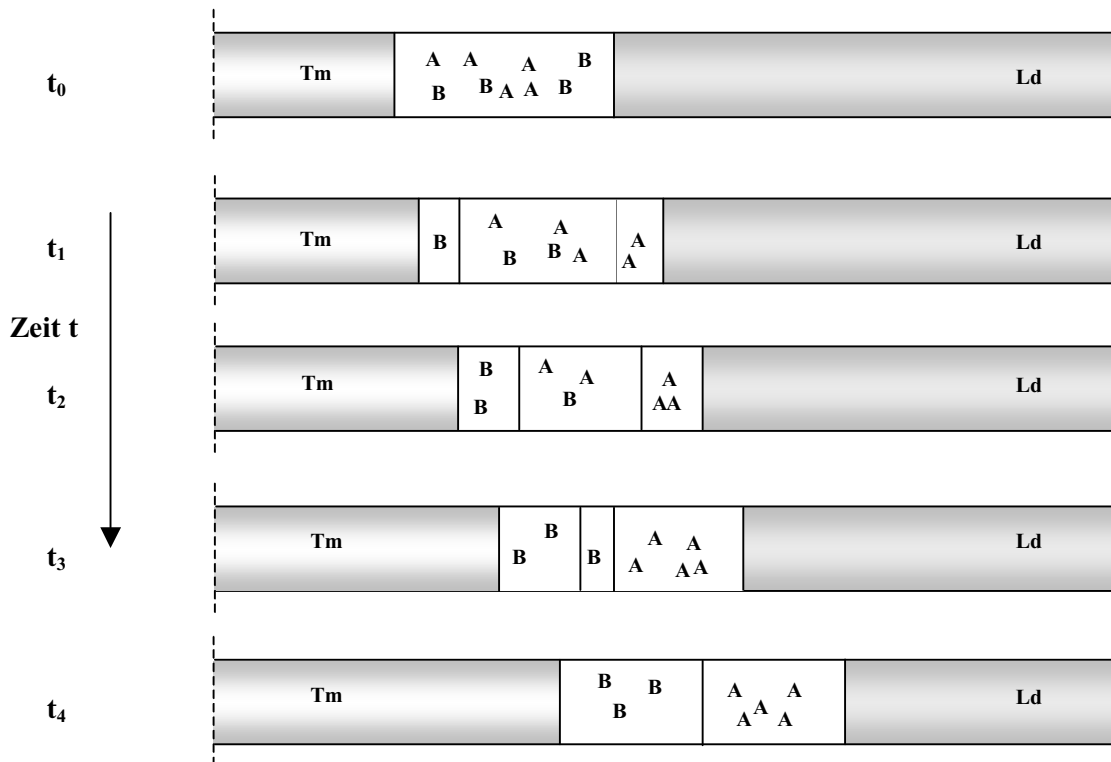


Abb. 3: Isotachophoretische Trennung; Ld = Leitelektrolyt; Tm = Folgeelektrolyt; A und B Analytione

3.2.3 Trennparameter und Trennkapazität der Isotachophorese

Die Wanderung von Ionen (Ladungstransport) ist immer mit einem Stromfluss verbunden. Die Wanderungsgeschwindigkeit wird bestimmt aus dem Verhältnis zwischen Stromstärke I und dem daraus resultierenden Stoffmengentransport (dN_A/dt) [61].

$$I = F \cdot \frac{\mu_A + \mu_R + (\mu_B + \mu_R) \cdot (N_B/N_A)}{\mu_A - \mu_B} \cdot \frac{dN_A}{dt} \quad \text{Gl. 15}$$

I = Stromstärke [A]; μ_A = Mobilität von A; μ_B = Mobilität von B; μ_R = Mobilität des Gegenions; N_A = Stoffmenge von A; N_B Stoffmenge von B; F = Faradaykonstante

Die Integration von Gl. 15 ergibt die Ladungsmenge Q_s , die nötig ist, die Komponenten A und B zu trennen. Die Ladungsmenge Q_s wird auch als Trennparameter bezeichnet.

$$Q_s = F \cdot \frac{N_A \mu_A + N_B \mu_B + \mu_R (N_A + N_B)}{\mu_A - \mu_B} \quad \text{Gl. 16}$$

Der Trennparameter ist eine von der Art des Leit- bzw. Folgeelektrolyten unabhängige Größe. Er ist eine Funktion des Mengenverhältnisses und der Mobilitäten der Analytione sowie der Mobilität des Gegenions.

Der sogenannte „column hold-up“ Q_L entspricht der Ladungsmenge, welche ab dem Start der isotachophoretischen Trennung durch den Detektor fließt.

$$Q_L = N_L \cdot F (1 - \mu_R / \mu_L) \quad \text{Gl. 17}$$

N_L = Stoffmenge des Leitelektrolyten; μ = Mobilität des Leitelektrolyten; F = Faradaykonstante; μ_R = Mobilität des Gegenions

Aus Gl. 17 folgt, dass Q_L direkt proportional zur Stoffmenge des Leitelektrolyten, und dadurch abhängig zum Kapillarvolumen und der Konzentration des Leitelektrolyten ist. Das führt zum minimalen Ladungstransport Q_{Lmin} , welcher zur Trennung zweier Komponenten mit gegebenen Q_L nötig ist.

$$Q_{Lmin} = Q_S - N_A \cdot F (1 - \mu_R / \mu_A) \quad \text{Gl. 18}$$

Die experimentelle Bestimmung von Q_L erfolgt über einen „Blank-Run“ durch die Beziehung $Q_L = I \cdot t_{Det}$ (bei konstanten Strom I und der Zeit t_{Det} bis die Probe am Detektor ankommt) bestimmt. Ist Q_L größer als Q_{Lmin} kann von einer vollständigen Trennung der Komponenten aus gegangen werden.

Die Trennkapazität N_S ist für die Isotachophorese ein weiterer wichtiger Parameter, welcher die maximale Probenstoffmenge bestimmt, die unter den gegebenen Bedingungen getrennt werden kann. Die Trennkapazität N_S wird nach Gl. 19 berechnet.

$$N_S = \frac{\mu_A - \mu_B}{\mu_B} \cdot \frac{Q_L}{F} \left(\frac{\mu_A - \mu_B}{\mu_A} + \frac{\mu_B - \mu_R}{\mu_B} \right) \quad \text{Gl. 19}$$

N_S = Trennkapazität

Aus dem vorher Beschriebenen lassen sich prinzipiell drei grundsätzliche Möglichkeiten zur Verbesserung der Trennkapazität N_S eines isotachophoretischen Systems ableiten:

- Alle zu trennenden Substanzen sind an einem chemischen Gleichgewicht beteiligt, deshalb kann durch eine Steigerung der Mobilitätsdifferenz durch neue Komplexbildung der Substanzen die Trennkapazität N_S verbessert werden.
- Auch durch eine Erhöhung des „column hold-up“ Q_L ist es möglich, die Trennkapazität N_S zu steigern. Durch eine Erhöhung der Konzentration des Leitelektrolyten und durch eine Volumenvergrößerung der Trennkapillare wird der „column hold-up“ Q_L vergrößert. Den Durchmesser der Trennkapillare zu erhöhen ist von Vorteil, während eine Verlängerung der Trennkapillare die Analysenzeit verlängert.
- Die Verbesserung der Trennkapazität N_S kann auch über die Verringerung der Mobilität des Gegenions erfolgen.

3.2.4 Beeinflussung der Trennung von Ionen

Obwohl die Isotachophorese ein Verfahren mit hoher Trennleistung ist, können Ionen, deren effektive Mobilitäten bzw. elektrophoretische Beweglichkeiten sich nur wenig unterscheiden, unter den üblichen Bedingungen nicht getrennt werden.

Betrachtet man beispielsweise die Mobilitäten von Kalium und Ammonium oder die Mobilitäten der Übergangsmetalle, reichen die Unterschiede in den Mobilitäten nicht aus, um eine isotachophoretische Trennung zu erhalten. Die höchste Mobilität besitzen das Hydroxidion OH^- und das Oxoniumion H_3O^+ . Deutlich werden die geringen Mobilitätsunterschiede der zu untersuchenden Übergangsmetalle, die in der Regel nicht ausreichen, um eine isotachophoretische Trennung dieser Spezies zu erreichen.

Die Tab. 8 zeigt die Mobilitäten der wichtigsten, in dieser Arbeit vorkommenden Ionen.

| μ_0 (Kationen) [m ² s ⁻¹ V ⁻¹] 10 ⁻⁸ | | μ_0 (Anionen) [m ² s ⁻¹ V ⁻¹] 10 ⁻⁸ | |
|--|-------|---|-------|
| Na ⁺ | 5,19 | Formiat | 5,66 |
| K ⁺ | 7,62 | Acetat | 4,24 |
| NH ₄ ⁺ | 7,62 | Glycolat | 4,24 |
| Ca ²⁺ | 6,16 | Lactat | 3,65 |
| Mg ²⁺ | 5,49 | β-Hydroxybutyrat | 3,33 |
| Ba ²⁺ | 6,16 | α-Hydroxybutyrat | 3,35 |
| Cr ³⁺ | 5,94 | α-Hydroxyisobuyrat | 3,35 |
| Ni ²⁺ | 5,18 | ε-Aminocapronsäure | 2,88 |
| Cu ²⁺ | 5,56 | OH ⁻ | 20,52 |
| Zn ²⁺ | 5,47 | | |
| Cd ²⁺ | 5,6 | | |
| Pb ²⁺ | 7,36 | | |
| H ₃ O ⁺ | 36,24 | | |

Tab. 8: Absolute Mobilitäten ausgewählter Ionen[62]

Die Änderung der Trenngeometrie und auch die Verlängerung der Dauer der isotachophoretischen Trennung führen in diesem Fall nicht zum Erfolg. Man definiert einen Selektivitätskoeffizienten r_{AB} , der, betrachtet man die Ionen A und B, vom Zahlenwert 1 genügend verschieden sein muss, um eine Trennung zu erhalten.

$$r_{AB} = \frac{\mu_{\text{effA}}}{\mu_{\text{effB}}} \quad \text{Gl. 20}$$

r_{AB} = Selektivitätskoeffizient

Nach Gl. 20 führen alle Faktoren, die eine Verminderung des Verhältnisses Ladung zu Radius bewirken, zu einer Änderung der Ionenbeweglichkeit. Wenn das für die verschiedenen Spezies mit unterschiedlichen Selektivitäten erfolgt, können diese getrennt werden.

3.2.5 Beeinflussung der Trennung durch Komplexbildung; Grundlagen der Metallbestimmung

Verwendet man die errechneten Mobilitäten (siehe Tab. 8) der freien Metall-Kationen zur Berechnung der Selektivitätskoeffizienten r_{AB} nach Gl. 20, erkennt man, dass eine Trennung der Metalle aufgr. ihrer Mobilitäten nicht möglich sein würde. Effiziente Trennungen werden nur bei den Alkali- und Erdalkalimetallen erreicht. Eine Möglichkeit, dennoch die Übergangsmetalle isotachophoretisch nach ihren Mobilitäten zu trennen, bietet eine Komplexbildung der Metalle, wenn diese für die verschiedenen Spezies unterschiedlich selektiv erfolgt [64, 65, 66].

Die Komplexgleichgewichte, die sich durch Zugabe eines schwachen Komplexbildners zum Leitelektrolyten (Leading) bilden, werden durch Gl. 21 beschrieben:



Die Ladung und die Anzahl der gebildeten Metallkomplexe hängen hauptsächlich von der Ladung der Metall-Kationen, dem Dissoziationsgrad der Metallkomplexe, dem Konzentrationsverhältnis v von Metall zu Ligand und dem pH-Wert des Elektrolyten ab. Prinzipiell ist es möglich, die daraus resultierende effektive Mobilität μ_{eff} über die freien Ionen und die gebildeten Komplexe nach Gl. 22 abzuschätzen.

$$\mu_{\text{eff}} = x_M \mu_M + x_{ML} \mu_{ML} + \dots + x_{ML_m} \mu_{ML_m} \quad \text{Gl. 22}$$

x = Molenbruch der entsprechenden Spezies

Eine weitere Möglichkeit, die durch Komplexbildung resultierende effektive Mobilität μ_{eff} auszudrücken, ist die Modifizierung von Gl. 23, bei der ein zusätzlicher Term die Reduktion der freien Metall-Kationen durch Komplexbildung beschreibt.

$$\mu_{\text{eff}} = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot r_M} x_M \quad \text{Gl. 23}$$

Die wichtigste Aufgabe zur Trennung der Metalle über Komplexbildung ist die Wahl des Komplexbildners. Es hat sich gezeigt, dass der Einsatz verschiedener Carbonsäuren und Hydroxycarbonsäuren (z. B. Hydroxyisobuttersäure, Milchsäure oder Glycolsäure) ermöglicht, Metall-Kationen isotachophoretisch zu trennen. Lin et al. [66] haben gezeigt, dass der Einfluss von Oxocarbonsäuren auf die Trennung über Mono-, Di- zu Tricarbonsäuren hin ansteigt. Das ist damit zu erklären, dass bei Dicarbonsäuren (z. B. Oxalsäure) die Tendenz zur Bildung stabiler Chelatkomplexe deutlicher ausgeprägter ist als bei Monocarbonsäuren. Eine erwähnenswerte Verbesserung der Trennung kann außerdem durch eine Kombination von zwei organischen Säuren, welche unterschiedliche Komplexbildungseigenschaften besitzen, erhalten werden (z.B. eine Kombination von Hydroxyisobuttersäure und Essigsäure) [67]. Die scheinbare Mobilität der freien Metall-

Kationen, die im Gleichgewicht mit den Komplexen stehen, ist zurückzuführen auf die entsprechenden Komplexbildungskonstanten. Die Trennselektivität wird letztendlich von den Unterschieden der Komplexbildung dominiert. Das hat zur Folge, dass sich die Auswahl der Komplexbildner nach deren Komplexbildungskonstanten mit den Metall-Kationen richtet.

Zu beachten ist auch die Geschwindigkeit der Komplexbildung, die schnell genug sein muss, um die Metallkomplexe in der für die isotachophoretischen Trennung üblichen Zeit zu bilden. Die Gleichgewichtseinstellung zwischen freien Metall-Kationen und entsprechenden Liganden darf nicht beliebig langsam sein, sonst migrieren die unterschiedlichen Spezies mit unterschiedlicher Geschwindigkeit, was zu einer unerwünschten Zonenverbreiterungen führt.

Ein weiterer wichtiger Aspekt zur Optimierung der isotachophoretischen Trennung ist die Konzentration der Komplexbildungsliganden. Die meisten organischen Säuren sind schwache Säuren und unterliegen folglich einem Säure-Base-Gleichgewicht, das im einfachsten Fall nach folgenden Beziehungen ausgedrückt werden kann:



$$K = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{L}^-]}{[\text{HL}]} \quad \text{Gl. 25}$$

Folglich bestimmt die Konzentration der freien Komplexligenanden und nicht die Gesamtkonzentration an Komplexbildner die Fähigkeit der selektiven Beeinflussung der Mobilitäten der Metall-Kationen. Die Konzentration an freien Komplexligenanden wird entscheidend über den pH-Wert des Leitelektrolyten, dem der Komplexbildner zugegeben wird, bestimmt. Für typische Komplexbildner wie z.B. Malonsäure und Bernsteinsäure liegt der pH-Wert des Leitelektrolyten zwischen 2,8 und 4,2. Bei niedrigen pH-Werten werden keine stabilen Komplexe gebildet. Ein praktischer oberer pH-Wert ist 5,0, der in den meisten Fällen eine noch zu vernachlässigende Hydrolyse der Metalle garantiert. Letztendlich hat der pH-Wert des Leitelektrolyten einen starken Einfluss auf die isotachophoretische Trennung der divalenten Metall-Kationen durch Komplexbildung. Für die Trennung divalenter Kationen in Gegenwart von Tricarbonsäuren (z.B. Zitronensäure) hat nicht nur der pH-Wert einen Einfluss auf den Grad der Protonierung, sondern auch die Ladung der sich bildenden Metallkomplexe.

Wenn man also die Natur der Komplexbildner kennt, kann die Selektivität der Trennung von Metall-Kationen im isotachophoretischen System durch Variation des Komplexbildners, dessen Konzentration und des pH-Werts des Leitelektrolyten beeinflusst und optimiert werden.

3.2.6 Beeinflussung der Trennung durch den pH-Wert

Die Variation des pH-Wertes stellt die einfachste Möglichkeit dar, eine elektrophoretische Trennung zu optimieren. Der Dissoziationsgrad wird unter anderem über den pH-Wert bestimmt und dadurch die

effektiven Mobilitäten der Analyten beeinflusst. Sicher ist die Beeinflussung der effektiven Mobilitäten durch Variation des pH-Wertes (z.B. durch verdünnte Mineralsäuren, die fast vollständig dissoziiert sind) nicht möglich.

Die Variation des pH-Wertes kann allerdings nicht in beliebigen Grenzen erfolgen, zu geringe oder zu hohe pH-Werte können nicht mehr in einem geeigneten System gepuffert werden und folglich kommt es zu Störungen durch zu hohe H_3O^+ - bzw. OH^- -Ionen-Konzentrationen.

3.2.7 Ausbildung eines "enforced Systems"

Für schwache Elektrolyte ist die effektive Mobilität eine Funktion des pH-Wertes. Folglich wird die monotone Abfolge der effektiven Mobilität verändert, wenn der pH-Wert in den einzelnen Zonen stark variiert. Das bedeutet, es kann zur Ausbildung eines "enforced Systems" kommen, wenn sich bis zum Erreichen des stationären Zustandes ein steiler pH-Gradient zwischen den einzelnen Zonen ausgebildet hat. Die Zonen mit niedrigerer Mobilität folgen den Zonen mit höherer Mobilität. In Abb. 4a) ist die effektive Mobilität der Ni-Spezies größer als die der Zn-Spezies. In Abb. 4b) besteht nach dem Erreichen des stationären Zustandes ein steiler pH-Gradient, so dass es zur Ausbildung eines "enforced Systems" kommt. Die effektive Mobilität der Zn-Spezies ist zwar größer als die von der Ni-Spezies, aber ihre Zone muss der von Nickel im isotachophoretischen System folgen [60].

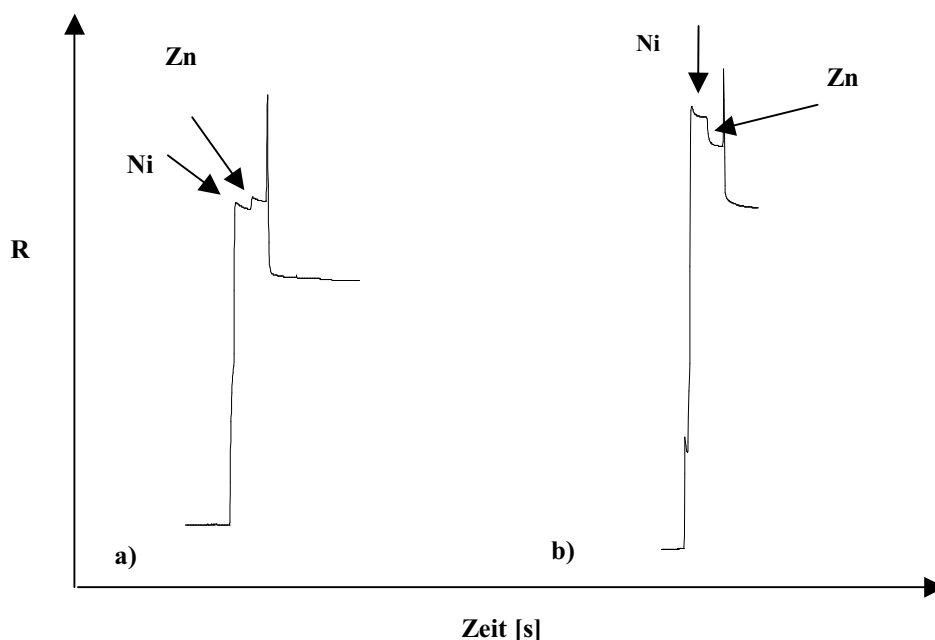


Abb. 4: Ausbildung eines "enforced Systems"

In Tab. 9 sind die Bedingungen der Isotachophoretischen Trennung dargestellt.

| | |
|-------------------|--|
| Kapillaren | 1. Kapillare: 9 cm Länge, 800 μm i. D. FEP; 2. Kapillare: 19 cm Länge, 300 μm i. D. FEP |
| Leitelektrolyt a) | 20 mM KOH, Glycolsäure, pH = 4.2, 1 % MHEC |
| Leitelektrolyt b) | 20 mM KOH, Glycolsäure, pH = 5.0, 1 % MHEC |
| Folgeelektrolyt | 10 mM β -Alanin |
| Injektion | 30 μl ; Injektionsventil |
| Stromstärke | I1: 200 μA ; I2: 60 μA |

Tab. 9: Bedingungen zur isotachophoretischen Trennung

3.2.8 Isotachophoretische Zonen

Ein isotachophoretisches System wird über die Eigenschaften seiner Zonen charakterisiert. In einem isotachophoretischen System mit den Elektrolyten T_m (Folgeelektrolyt), A^+ (Analytion A), B^+ (Analytion B) und L_d (Leitelektrolyt L), für deren Mobilitäten $\mu_{L_d} > \mu_{A^+} > \mu_{B^+} > \mu_{T_m}$ gilt, wandern im stationären Zustand alle Zonen mit gleicher Geschwindigkeit und sind durch scharfe Zonengrenzflächen voneinander getrennt. An diesen Zonengrenzflächen ändern sich die physikalischen Eigenschaften sprunghaft.

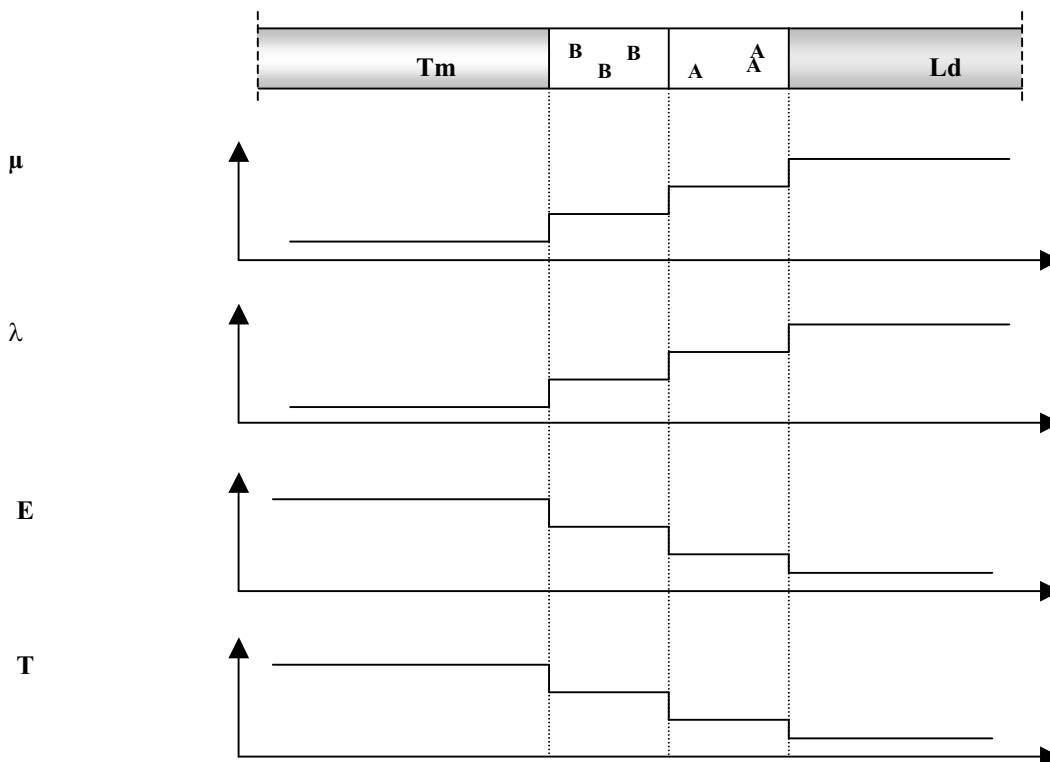


Abb. 5: Eigenschaften isotachophoretischer Zonen; μ = Mobilität, λ = Leitfähigkeit, E = elektrische Feldstärke, T = Temperatur

Für die Wanderungsgeschwindigkeit v_{iso} gilt:

$$v_{\text{iso}} = E_{\text{Ld}} \mu_{\text{Ld}} = E_{\text{A}^+} \mu_{\text{A}^+} = E_{\text{B}^+} \mu_{\text{B}^+} = E_{\text{Tm}} \mu_{\text{Tm}} \quad \text{Gl. 26}$$

Aus Gl. 26 ergibt sich, dass die elektrische Feldstärke in einer Zone um so größer wird, je geringer die Mobilität des Elektrolyten wird.

Arbeitet man mit einem konstanten Strom I in der Kapillare (mit konstanten Querschnitt S) erhält man über das Ohmsche Gesetz Gl. 27.

$$\chi_{\text{Ld}} E_{\text{Ld}} = \chi_{\text{A}} E_{\text{A}} = \chi_{\text{B}} E_{\text{B}} = \chi_{\text{Tm}} E_{\text{Tm}} = I = \text{konstant} \quad [\Omega \text{cm}^{-1}] \quad \text{Gl. 27}$$

χ = elektrische Leitfähigkeit $[\Omega \text{cm}^{-1}]$; E = elektrische Feldstärke $[\text{V cm}^{-1}]$, I = Strom $[\text{A}]$

Die elektrische Leitfähigkeit ergibt sich zu:

$$\chi = F \cdot (z_+ c_+ \mu_+ + z_- c_- \mu_-) \quad \text{Gl. 28}$$

F = Faradaykonstante $[\text{C mol}^{-1}]$; z = Ladungszahl; c = Konzentration $[\text{mol l}^{-1}]$

Gl. 26 hat zur Konsequenz, dass sich die Leitfähigkeit in den einzelnen Zone n (bei konstanter Stromstärke I) umgekehrt proportional zum elektrischen Feld E in den einzelnen Zonen verhält.

Mit einem Stromfluss durch eine Kapillare ist das Entstehen von Joulscher Wärme W verbunden.

$$W = E^2 \cdot \Lambda \cdot c \quad \text{Gl. 29}$$

Λ = Ionenäquivalentleitfähigkeit $[\Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}]$; W = Joulsche Wärme $[\text{W cm}^{-3}]$

Analog zum elektrischen Feld E steigt die Temperatur von der Zone mit der größten Mobilität zur Zone mit der geringsten Mobilität. Aus den Gleichungen 26, 27, 28 und 29 geht hervor, dass zur Lokalisierung von Zonengrenzflächen Thermo-, Leitfähigkeits- und Potentialdetektoren geeignet sind [60].

3.2.9 Dynamische Zonenschärfung "self sharpening Effect"

Die Grenze zwischen zwei isotachophoretischen Zonen ist scharf und die Breite dieser Zonengrenzflächen bleibt während der isotachophoretischen Trennung bei einer gegebenen Zusammensetzung der Lösung und gleichbleibendem Strom konstant. Die dynamische Zonenschärfung ist in Abb. 6 schematisch dargestellt.

In einem isotachophoretischen System mit einer wandernden Grenzfläche zwischen zwei Zonen L und T existiert ein Potentialgradient entlang des Migrationsweges in der Weise, dass in der Zone mit der höheren Mobilität eine niedrigere elektrische Feldstärke herrscht. Durch diese Diskontinuität der elektrischen Feldstärke wird einer durch Diffusion oder Konvektion auftretende Vermischung an der Zonengrenzfläche entgegen gewirkt. Das Ion L gerät an der Zonengrenzfläche in den Einfluss höherer elektrischer Feldstärke und

wird beschleunigt, bis es seine eigene Zone wieder eingeholt hat. Entsprechend wird ein Ion T in der Zone n-grenzfläche abgebremst, bis es von seiner eigenen Zone T wieder aufgenommen wird. Die Unschärfe der Zonengrenzfläche ist ein Resultat eines Kompromisses zwischen Diffusion in den Grenzbereichen und der dynamischen Zonenschärfung, die aus der Diskontinuität der elektrischen Feldstärke resultiert. Nimmt man den einfachen Fall der Migration von monovalenten Elektrolyten und konstanten Mobilitäten, so kann das Konzentrationsprofil in Längsrichtung von zwei aufeinander folgenden Zonen wie folgt beschrieben werden [68].

$$\ln \frac{c_L}{c_T} = \frac{F \cdot v_{iso}}{R_K T} \cdot \frac{|\mu_L - \mu_T|}{\mu_L \cdot \mu_T} \cdot X \quad \text{Gl. 30}$$

R_K = Gaskonstante [8,31441 J mol⁻¹ K⁻¹]; T = Temperatur [K]; X = Zonenlänge [cm]

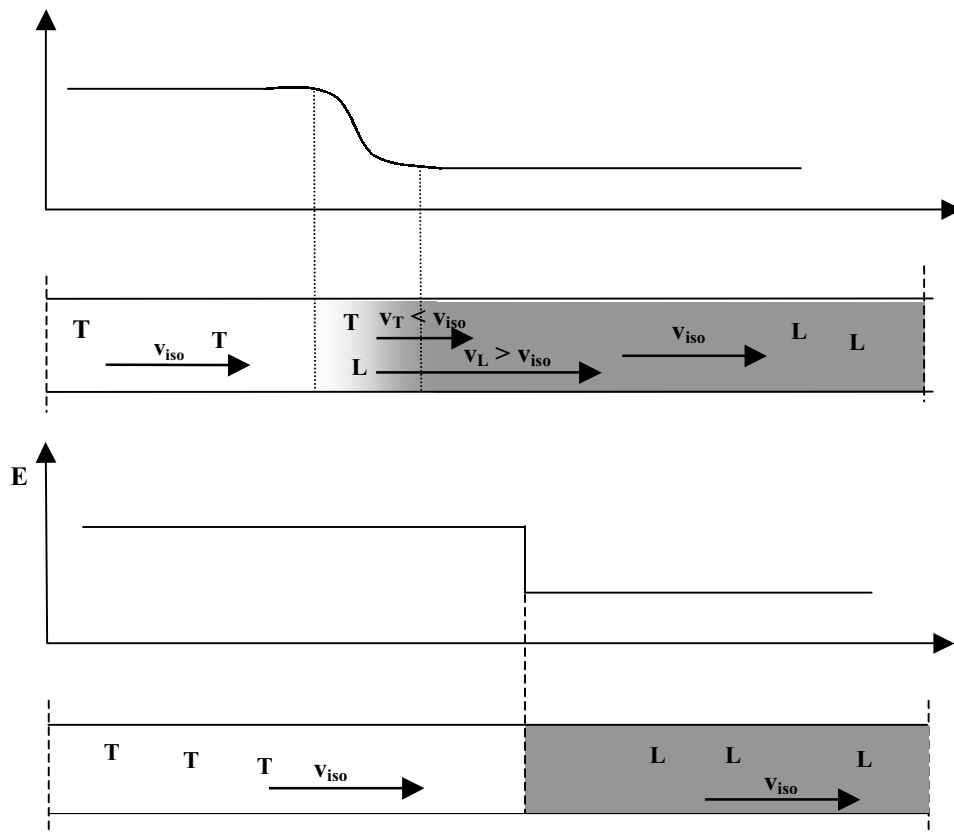


Abb. 6: Prinzip der dynamischen Zonenschärfung

3.2.10 Mathematisches Modell der Isotachophorese

Kohlrausch entwickelte 1897 ein mathematisches Modell zur Beschreibung elektrophoretischer Prozesse, die "beharrliche Funktion" [40].

$$\sum_i \frac{c_i}{\mu_i} = \text{konstant} \quad \text{Gl. 31}$$

c_i = Konzentration Ion i ; μ_i = Mobilität Ion i

Die Funktion dient zur Beschreibung der Migration starker Elektrolyte und basiert auf dem Prinzip der Elektroneutralität und der Annahme konstanter Mobilitäten.

Das vereinfachte Modell der Isotachophorese ist eine Erweiterung der „beharrlichen Funktion“ und basiert auf folgenden Annahmen:

- Die Mobilität des Ions L ist größer als die Mobilität des Ions A ($\mu_L > \mu_A$),
- gleiches Gegenion Q in allen Zonen (1 und 2) mit konstanter Mobilität μ_Q ,
- monovalente und vollständig dissoziierte Ionen,
- konstante Stromdichte.

Aus dem Elektroneutralitätsprinzip folgt, dass die Anzahl der Ionen und Gegenionen in den Zonen L und A gleich ist.

$$c_{L,1} = c_{Q,1} \quad \text{und} \quad c_{A,2} = c_{Q,2} \quad \text{Gl. 32}$$

Das isotachophoretische Prinzip besagt, dass alle Zonen mit gleicher Geschwindigkeit v_{iso} wandern, so dass gilt:

$$v_L = v_A; \quad v_{\text{iso}} = \mu_L \cdot E_L = \mu_A \cdot E_A; \quad \frac{E_L}{E_A} = \frac{\mu_A}{\mu_L} \quad \text{Gl. 33}$$

Nach dem Ohmschen Gesetz folgt:

$$I = \text{konstant} = E_L \cdot \lambda_L = E_A \cdot \lambda_A \quad \text{Gl. 34}$$

Und damit kann ein Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit und Ionenbeweglichkeit hergestellt werden:

$$\lambda_L = c_L \cdot F \cdot (\mu_L + \mu_Q), \quad \lambda_A = c_A \cdot F \cdot (\mu_A + \mu_Q) \quad \text{Gl. 35}$$

Die Gleichungen 32, 33, 34 und 35 führen schließlich zur erweiterten "beharrlichen Funktion" von Kohlrausch:

$$c_A = c_L \cdot \frac{\mu_A}{\mu_L} \cdot \frac{(\mu_L + \mu_Q)}{(\mu_A + \mu_Q)} \quad \text{Gl. 36}$$

Gl. 36 verdeutlicht, dass sich die Konzentration in den Analytzone nach der Konzentration in den vorangegangenen Zonen einstellt. Das bedeutet, die Analytkonzentration ist in den Zonen konstant und unabhängig von ihrer ursprünglichen Konzentration in der Probe und nur von den Mobilitäten der beteiligten Ionen abhängig.

3.2.11 Qualitative und quantitative Information

- Qualitative Information:

Aufgrund der unterschiedlichen Mobilitäten der die Zonen bildenden Ionen herrscht in jeder Zone eine individuelle elektrische Feldstärke, die sich an der Zonengrenzfläche sprunghaft ändert. Durch diese Diskontinuität entstehen im Gegensatz zu anderen Trennmethode scharfe Substanzonen, die während der Migration keiner Bandenverbreiterung unterliegen (stationärer Zustand vorausgesetzt). Daraus resultiert auch gleichzeitig das ungewöhnliche Anzeigebild, wenn die getrennten Zonen durch z. B. Leitfähigkeits- oder Widerstandsmessung lokalisiert werden.

Abb. 7 zeigt ein ideales Isotachopherogramm.

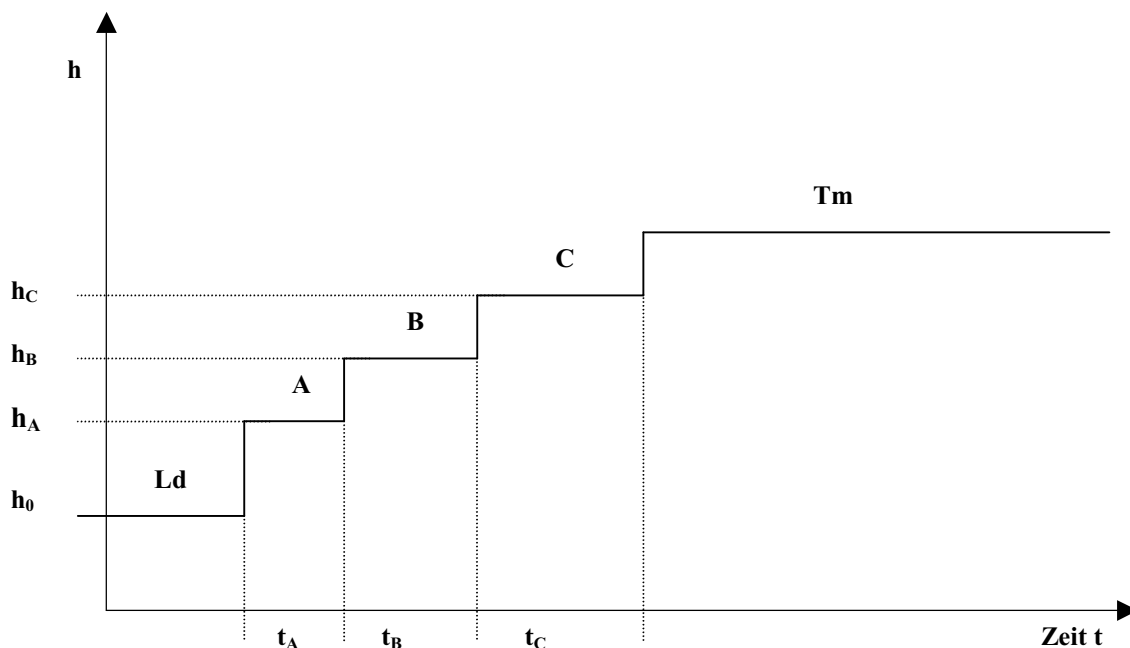


Abb. 7: Ideales Isotachopherogramm

Die Höhe des Signals (h) charakterisiert die unterschiedlichen Zonen und ist eine individuelle Messgröße der Zonen und damit der Analyten. Die Identifizierung einer Substanz wird in der Isotachophorese über die Signalhöhe, genauer der relativen Stufenhöhe (RSH), der als Referenzlinie die Signalhöhe des Leitelektrolyten (L_d) dient, durchgeführt. Das heißt, eine bestimmte Substanz generiert in einem gegebenen Elektrolytsystem immer die gleiche relative Stufenhöhe (RSH).

▪ Quantitative Information:

Die Konzentrationen der Analyten sind nach Gl. 36 unabhängig von ihrer ursprünglichen Konzentration in der Probe und werden durch die Konzentration des Leitelektrolyten bestimmt. In der Trennkapillare nimmt ein Analyt (i) dementsprechend ein definiertes Volumen (V) ein. Eine Mengenänderung (ΔQ) der Probeionen kann sich also nur in einer proportionalen Änderung der Zonenlänge (Δl), bei gegebenem Kapillarquerschnitt (q) nach folgender Gleichung ausdrücken

$$\Delta Q = c_i \cdot \Delta V = c_i \cdot q \cdot \Delta l_i \quad \text{Gl. 37}$$

Die Quantifizierung der Probenbestandteile erfolgt durch Aufzeichnen der Zonenlänge der Probezonen. Dies wird in der Regel durch einen Detektor am Ende der Trennkapillare beim Vorbeiwandern der Probezonen durchgeführt. Aus Gl. 37 ergibt sich zwischen der Zonenlänge und der Konzentration ein proportionaler Zusammenhang. Eine Auftragung der Zonenlänge gegen die Analytkonzentration ergibt eine Kalibrierfunktion 1. Ordnung und ermöglicht die quantitative Auswertung [60].

3.3 Mathematisch-Statistische Grundlagen

3.3.1 Regressionsanalyse

Analysenverfahren bedürfen einer Kalibrierung, um Zusammenhänge zwischen Messgröße y und dem vorgegebenen Gehalt x zu ermitteln. Ein einfaches mathematisches Modell zur Ermittlung von Kalibrierfunktionen stellt die Regressionsanalyse dar. Sie stellt den funktionalen Zusammenhang $y = f(x)$ zwischen einem vorgegebenen Gehalt als unabhängiger Größe und dem von x abhängigen Messwert y dar, so dass damit die Bestimmung eines gesuchten Gehaltes in einer realen Probe über den gemessenen Wert y möglich ist. Der lineare Zusammenhang zwischen Messgröße y und Gehalt x stellt den einfachsten Fall dar und wird mit Gl. 38 beschrieben [69, 70, 71].

$$y = a_0 + a_1 x \quad \text{Gl. 38}$$

a_0 = berechneter Blindwert (y -Achsenabschnitt) und a_1 = Empfindlichkeit (Steigung)

Die Koeffizienten a_0 (berechneter Blindwert, y -Achsenabschnitt) und a_1 (Empfindlichkeit, Steigung) werden nach den Regeln der linearen Regression berechnet. Die Koeffizienten a_0 bzw. a_1 werden aus N Standardpro-

ben, deren Konzentrationen x_i möglichst mit gleichen Abständen über den gesamten Arbeitsbereich verteilt sind, über die gemessenen Werte y_i nach den Gleichungen 39 und 40 berechnet.

$$a_1 = \frac{\sum [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Gl. 39}$$

$$a_0 = \bar{y} - a_1 \bar{x} \quad \text{Gl. 40}$$

Über die Mittelwerte

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \quad \text{Gl. 41}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{N} \quad \text{Gl. 42}$$

lassen sich die Quadratsummen Q_{xx} und Q_{xy} nach

$$Q_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad \text{Gl. 43}$$

$$Q_{xy} = \sum [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})] \quad \text{Gl. 44}$$

berechnen.

Die Präzision der Kalibrierfunktion, welche die Streuung der Informationswerte y_i um die Kalibriergerade quantitativ beschreibt, wird über die Reststandardabweichung s_y ausgedrückt.

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2}} \quad \text{mit } \hat{y}_i = a_0 + a_1 x_i \quad \text{Gl. 45}$$

3.3.2 Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion

Bei der Bestimmung eines Informationswertes y_i ist der Fehler, der über die Kalibrierfunktion eingebracht wird, zu berücksichtigen. Die Kalibrierfunktion liegt daher, mit einer durch den Student - t -Faktor $t_{(p; n)}$ gegebener Sicherheit zwischen einem durch zwei Hyperbeläste begrenzten Prognoseintervall. Die Hyperbeläste werden durch Gl. 46 angenähert.

$$y_i = \hat{y}_i \pm VB_y \quad \text{mit } \hat{y}_i = a_0 + a_1 x_i \quad \text{Gl. 46}$$

Die Unsicherheit dieses Informationswertes wird durch den Vertrauensbereich VB_y an der Stelle x_i mit n Wiederholbestimmungen angegeben.

$$VB_y = s_y \cdot t_{(t,P)} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Gl. 47}$$

N = Anzahl der Standardkonzentrationen

Die Größe dieses Prognoseintervalls hängt zum einen von der Präzision s_y der Kalibrierfunktion, zum anderen von dem Student-t-Faktor $t_{(P,f)}$ ab. In der Regel wird in der analytischen Chemie für den Student-t-Faktor das Vertrauensniveau $P = 95\%$ bei zweiseitiger Betrachtung herangezogen [69, 72]. Für eine Konzentration x_i , ermittelt durch Umrechnung eines Analyseergebnisses y_i in die gesuchte Konzentration x_i nach

$$y_i = x_i \cdot a_1 + a_0 \Leftrightarrow x_i = \frac{y_i - a_0}{a_1}, \quad \text{Gl. 48}$$

ergibt sich ein Prognoseintervall VB_x aus den Schnittpunkten einer Horizontalen im Informationswert mit dem unteren und oberen Hyperbelast. Die mathematische Gleichung 49 ergibt sich aus den Gleichungen 46, 47 und 48 als Näherungsgleichung.

$$\hat{x}_{1,2} = x_i \pm VB_x \quad \text{mit} \quad VB_x = s_y \cdot t_{(f,P)} \cdot \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y_i - \bar{y})^2}{a_1^2 Q_{xx}}} \quad \text{Gl. 49}$$

Damit liegt der tatsächliche Wert x_i mit einem gewählten Vertrauensbereichs P zwischen dem in Gleichung 50 beschriebenen Prognoseintervall.

$$x_i - VB_x = \hat{x}_1 \leq x_i \leq \hat{x}_2 = x_i + VB_x \quad \text{Gl. 50}$$

Die Vertrauensbereiche für die Koeffizienten a_0 und a_1 werden aus ihren Standardabweichungen s_{a0} bzw. s_{a1} und dem Student-t-Faktor $t_{(P,f)}$ für $f = N - 2$ und $P = 95\%$ (zweiseitig) nach Gleichung 51 und 52 berechnet.

$$VB_{a0} = \pm t_{(P,f)} \cdot s_{a0} \quad \text{mit} \quad s_{a0} = s_y \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad \text{Gl. 51}$$

$$VB_{a_1} = \pm t_{(p,f)} \cdot s_{a_1} \quad \text{mit } s_{a_1} = \frac{s_y}{\sqrt{Q_{xx}}} \quad \text{Gl. 52}$$

Der Vertrauensbereich des Achsenabschnitts VB_{x_0} entspricht dem Vertrauensbereich VB_y nach Gleichung 49 an der Stelle $x = 0$.

3.3.3 Verfahrensstandardabweichung und relative Verfahrensstandardabweichung

Unter festgelegten Bedingungen (Anzahl der Kalibrierproben, statistische Sicherheit, gleiche Verteilung der Kalibrierpunkte über einen festgelegten Arbeitsbereich) wird die Güte des Analysenverfahrens im wesentlichen durch die Größe der aus dem Kalibrierexperiment gewonnenen Kenndaten Reststandardabweichung s_y (siehe Gleichung 45) und Empfindlichkeit a_1 bestimmt. Fasst man beide Kenndaten zu einer Kenngröße zusammen, resultiert daraus die Verfahrensstandardabweichung s_{x_0} .

$$s_{x_0} = \frac{s_y}{a_1} \quad \text{Gl. 53}$$

a_1 = Empfindlichkeit

Danach liefert bei gleicher Eichpräzision s_y das empfindlichere Verfahren (größere Steigung a_1 der Eichgeraden) eine geringere Verfahrensstandardabweichung s_{x_0} .

Zum Vergleich der Leistungsfähigkeit von Analysenverfahren, empfiehlt es sich, die relative Verfahrensstandardabweichung heranzuziehen.

$$s_{x_0\text{rel}} = \frac{s_{x_0} \cdot 100\%}{a_1} \quad \text{Gl. 54}$$

Allerdings liefern die genannten Verfahrenskennndaten s_y und s_{x_0} nicht allein eine Aussage über die Leistungsfähigkeit eines Analysenverfahrens. Die Qualität des Analysenergebnisses hängt vor allem von der Art und Weise bzw. Qualität der Durchführung durch den Anwender ab. Daraus ergibt sich jedoch die Möglichkeit einer objektiven Beurteilung der gleichbleibenden Qualität der Durchführung einer Analyse, der Arbeitsgeräte und der verwendeten Chemikalien.

Als Qualitätsanforderung für alle kalibrierbedürftigen Analysenverfahren in der Wasseranalytik wird von Rinne und Lege [73] eine relative Verfahrensstandardabweichung s_{x_0} von 3,33 % (für eine 10 Punkte Kalibrierung) vorgeschlagen.

3.3.4 Methodenvergleich in der Routine

Soll ein Analysenverfahren auf seinen praktischen Einsatz hin überprüft werden, so gilt es, das Verfahren an realen Proben zu testen. Dabei werden Parallelbestimmungen mit sowohl Referenzverfahren als auch Alternativverfahren durchgeführt. Die erhaltenen Messwerte des Alternativverfahrens x_{iA} werden mit denen des Referenzverfahrens x_{iR} verglichen.

Zum Vergleich bieten sich grundsätzlich zwei Methoden an:

- Nimmt man an, dass das Referenzverfahren die richtigen Werte x_{iR} liefert, werden die relativen Abweichungen $\Delta x_{A/R}$ der Ergebnisse des Alternativverfahrens vom Referenzverfahren berechnet. An der prozentualen Abweichung kann man die Leistungsfähigkeit des Alternativverfahrens in Abhängigkeit der Probenart und der Gehalte der zu bestimmenden Parameter beurteilen. Zum anderen ist es möglich, Hinweise auf systematische Abweichungen zum Bezugsverfahren zu erhalten. Dies ist dann der Fall, wenn sich die Mehrzahl (mehr als 70 %) der mit dem Alternativverfahren erhaltenen Werte x_{iA} einseitig positiv oder negativ von denen des Referenzverfahren unterscheiden.
- Wenn keines der beiden Verfahren als richtiger anzusehen ist, kann ein objektiver Vergleich nur über statistische Modelle stattfinden. Dabei werden die Wertepaare einer geeigneten Regression unterworfen und die ermittelten Funktionsparameter mit dem Idealergebnis der Steigung $a_1 = 1$ und des Achsenabschnitts $a_0 = 0$ verglichen. In dieser Arbeit werden zwei Regressionsmodelle bzw. statistische Bewertungsverfahren angewendet, zum einen das in der Wasseranalytik übliche Verfahren der *Orthogonalregression* mit *Differenzen-t-Test* [69, 77] und zum anderen das seither hauptsächlich für Methodenvergleiche in der Klinischen Chemie verwendete Verfahren nach *Bablok-Passing* [78, 79].

3.3.4.1 Methodenvergleich an realen Proben durch Präzisions- und Mittelwertvergleich

Wenn ein Analysenergebnis als Grundlage für eine Entscheidung (z. B. Feststellung einer Grenzwertüberschreitung, Einleitung von Korrekturmaßnahmen) dient, besteht immer das Risiko, dass es aufgrund eines fehlerhaften Analysenergebnisses (durch zufällige oder systematische Fehler) zu Fehlentscheidungen kommt. Eine Abschätzung dieses Risikos kann durch statistische Prüfverfahren vorgenommen werden. Diese Prüfverfahren ermöglichen es:

- Extreme Analysenergebnisse innerhalb einer Datenreihe durch einen Grubbs -Ausreissertest zu identifizieren.
- Unterschiede zwischen den Mittelwerten von zwei voneinander unabhängigen Analysenserien mit einem Mittelwert-t-Test statistisch zu beurteilen.
- Die Präzision (Varianz) von zwei Analysenserien mittels *F-Test* zu vergleichen.
- Mit einem *Sollwert-t-Test* einen Mittelwert mit einem Soll - oder Grenzwert zu vergleichen.

Die aus diesen Tests [69] berechneten statistischen Prüfgrößen werden mit Tabellenwerten [69] verglichen. Die Bewertung der dadurch erhaltenen Information ist nicht mehr Sache der Statistik, sondern obliegt dem Ermessensspielraum des jeweiligen Anwenders.

Wird in der Wasseranalytik z. B. wegen Kostengründen oder Einsatzgebiet ein neu entwickeltes Alternativ-Verfahren eingesetzt, so muss auf jeden Fall sichergestellt werden, dass gleichwertige Analyseergebnisse sowohl mit Referenzverfahren als auch mit Alternativ-Verfahren erhalten werden.

Enthält eine Serie von Analyseergebnissen einen oder mehrere Werte, der oder die extrem weit vom Mittelwert entfernt liegen, wird das Gesamtergebnis von diesen Werten erheblich beeinflusst.

Die Aufdeckung solcher einzelner Ausreißerwerte erfolgt nach dem *Grubbs*-Test (vergleiche Abschnitt 4.7). Der *F*-Test wird zur Prüfung der Ungleichheit bzw. Gleichheit zweier Varianzen (s_R^2 und s_A^2), die aus zwei unabhängigen Datenreihen ermittelt wurden, herangezogen.

Als Prüfgröße PG_F wird das Verhältnis der beiden Stichprobenvarianzen gebildet nach:

$$PG_F = \frac{s_A^2}{s_R^2} \quad \text{für } s_A > s_R \quad \text{bzw.} \quad PG_F = \frac{s_R^2}{s_A^2} \quad \text{für } s_A < s_R \quad \text{Gl. 55}$$

s_R = Standardabweichung Referenzverfahren und s_A = Standardabweichung Alternativverfahren

Die Prüfgröße PG_F wird mit dem Tabellenwert F_{f_1, f_2} ($f_1 = f_2 = N-1$ und $P = 95\%$) [69] verglichen. Ist $PG_F \leq F_{f_1, f_2, P}$ so besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen von Referenzverfahren und Alternativverfahren.

Der *Mittelwert-t*-Test kann zum statistischen Vergleich zweier Mittelwerte aus zwei voneinander unabhängigen Analysenserien (Normalverteilung angenommen) herangezogen werden. Die Prüfgröße PG_M wird nach Gleichung berechnet:

$$PG_M = \frac{|\bar{x}_R - \bar{x}_A|}{s_d} \sqrt{\frac{N_R N_A}{N_R + N_A}} \quad \text{mit} \quad s_d = \sqrt{\frac{(N_R - 1)s_R^2 + (N_A - 1)s_A^2}{N_R + N_A - 2}} \quad \text{Gl. 56}$$

N_R, N_A : Anzahl der Analysen mit Referenz- bzw. Alternativverfahren

Für $N_A = N_R$ vereinfacht sich die Gleichung zu:

$$PG_M = |\bar{x}_R - \bar{x}_A| \frac{\sqrt{N}}{\sqrt{s_R^2 + s_A^2}} \quad \text{Gl. 57}$$

Die Prüfgröße PG_M wird mit dem $t_{f,p}$ -Tabellenwert [69] für $P = 95\%$ verglichen. Die Anzahl der Freiheitsgrade ergibt sich aus dem *F*-Test. Für den Fall, dass die beiden Standardabweichungen s_R und s_A vergleichbar sind, gilt für die Anzahl der Freiheitsgrade $f = 2N - 2$ (für $N_R = N_A$).

Besteht allerdings ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standardabweichungen, wird die Anzahl der Freiheitsgrade f nach folgender Gleichung bestimmt:

$$f = N - 1 + \frac{2N - 2}{(s_R/s_A)^2 + (s_A/s_R)^2} \quad \text{Gl. 58}$$

Für $PG_M \leq t_{p,f}$ -Tabellenwert [69] (mit einer statistischen Sicherheit von $P = 95\%$) gilt, dass die Mittelwerte nicht signifikant voneinander verschieden sind und die beiden Analysenverfahren ein gleichwertiges Ergebnis liefern. Allerdings ist zu beachten, dass zwar die Mittelwerte ein gleichwertiges Ergebnis liefern können, aber die Präzision (ausgedrückt durch die Standardabweichungen) sehr verschieden sein kann.

Die Möglichkeit, systematische Abweichungen bzw. Fehler aufzudecken, bieten z. B. der Vergleich durch zwei unabhängige Verfahren, die Bestimmung mittels zertifizierten Referenzmaterialien, das Verfahren gezielter Dotierung und die Beteiligung an Ringanalysen. Unter der Annahme einer Normalverteilung kann ein Mittelwert \bar{x} einer Analysenserie mit einem Soll- oder Grenzwert x_{Soll} verglichen werden. Die Entscheidung, ob ein systematischer Unterschied zwischen \bar{x} und x_{Soll} besteht, wird nach Vergleich von der Prüfgröße PG_S mit dem $t_{p,f}$ -Tabellenwert [69] der t -Tabelle ($f = N - 1$, $P = 95; 99; 99,9\%$) entschieden. Für $PG_S \leq t_{p,f=95\%}$ besteht kein signifikanter Unterschied, für $t_{p,f=95\%} < PG_S \leq t_{p,f=99\%}$ ein wahrscheinlicher Unterschied, für $t_{p,f=99\%} < PG_S \leq t_{p,f=99,9\%}$ ein signifikanter Unterschied und für $t_{p,f=99,9\%} < PG_S$ ein hoch signifikanter Unterschied zwischen dem gefundenen Mittelwert \bar{x} und dem Sollwert x_{Soll} .

3.3.4.2 Orthogonalregression und Differenzen-t-Test

Eine Möglichkeit, ein neues Analysenverfahren auf seinen generellen praktischen Einsatz in der Wasseranalytik hin zu überprüfen ist, das Verfahren an realen Proben zu testen. Dabei wird für jede der mindestens $N = 30$ Proben eine Parallelbestimmung mit sowohl Referenz- als auch Alternativverfahren durchgeführt. Die erhaltenen Wertepaare werden einer linearen Regressionsanalyse unterzogen. Dabei wird die Ausgleichsgerade so berechnet, dass sie sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Richtung von den Messpunkten so wenig wie möglich abweicht.

Die Funktionskoeffizienten a_1 (Steigung) und a_0 (Achsenabschnitt) werden nach Gleichung 39 und 40 (vergleiche Abschnitt 3.3.1) berechnet.

Je größer die Abweichungen der Funktionskoeffizienten von ihren Idealwerten $a_1 = 1$ und a_0 sind, desto mehr deutet dies auf Unterschiede zwischen beiden Verfahren hin.

Mit einem *Differenzen-t-Test* kann entschieden werden, ob sich beide Verfahren signifikant unterscheiden. Dabei wird eine Prüfgröße PG_t nach Gleichung 59 ermittelt und mit dem $t_{p,f}$ -Tabellenwert [69] ($f = N-1$ und $P = 99\%$) verglichen.

Wenn die Prüfgröße $PG_t \geq t_{99\%,t}$ ist, dann ist der Unterschied zwischen beiden Verfahren signifikant.

$$PG_t = \frac{|\bar{x}_R - \bar{x}_A|}{\sqrt{\frac{\sum D_i^2 - \frac{1}{N}(\sum D_i)^2}{(N-1)N}}} \quad \text{mit } D_i = x_{iR} - x_{iA} \quad \text{Gl. 59}$$

3.3.4.3 Verfahren nach Bablok-Passing

Ein Nachteil der Orthogonalregression mit anschließendem Differenzen-t-Test liegt darin, dass von einer Normalverteilung der Proben und des Messfehlers ausgegangen wird, obwohl die Praxis zeigt, dass diese Annahmen beim Methodenvergleich nicht ohne weiteres zutreffen. Ein Vorteil gegenüber der Orthogonalregression mit anschließendem Differenzen-t-Test ist, dass Extremwerte die Schätzung von Steigung und Achsenabschnitt sowie die Ergebnisse der statistischen Tests nicht beeinflussen und die Berechnung des Vertrauensbereichs Bestandteil des Verfahrens ist [78, 79].

$$x_{iA} = a_0 + a_1 x_{iR} \quad \text{Gl. 60}$$

a_0 = Achsenabschnitt, a_1 =Steigung

Die statistische Auswertung läuft in drei Schritten ab:

- (1) Schätzung des Achsenabschnitts a_0 und der Steigung a_1 inklusive der Vertrauensbereiche
- (2) Prüfung auf Linearität
- (3) Test der Hypothesen $a_0 = 0$ und $a_1 = 1$

Bezüglich der mathematisch-statistischen Hintergründe und der Herleitung der folgenden Ausführungen bzw. Gleichungen sei auf die Originalliteratur [78] verwiesen.

• Berechnung des Achsenabschnitts a_0 und der Steigung a_1 inklusive der Vertrauensbereiche

Es werden alle Möglichkeiten betrachtet, die einzelnen N Messwerte paarweise zu verbinden. Die Steigungen der daraus resultierenden maximal $N(N-1)/2$ Verbindungslinien werden nach Gleichung 61 berechnet.

$$S_{ij} = \frac{x_{iA} - x_{jA}}{x_{iR} - x_{jR}}; \quad 1 \leq i < j \leq N \quad \text{Gl. 61}$$

Folgende Sonderfälle sind zu beachten:

- Für $x_{iR} = x_{jR}$ und für $x_{iA} = x_{jA}$ wird S_{ij} nicht berechnet.
- Für $x_{iR} = x_{iA}$ und für $x_{iA} > x_{jA}$ nimmt S_{ij} den Wert ∞ bzw. für $x_{iR} = x_{iA}$ und für $x_{iA} < x_{jA}$ den Wert $-\infty$ an.
- Für $x_{iR} \neq x_{iA}$ und für $x_{iA} = x_{jA}$ wird $S_{ij} = 0$.

Unter Berücksichtigung der Sonderfälle werden die erhaltenen M Steigungen nach ihrer Größe geordnet ($S_{(1)} \leq S_{(2)} \dots \leq S_{(M)}$) und die Anzahl K ermittelt, für die $S_{ij} < -1$ gilt [78]. Die Steigung a_1 der Regressionsgeraden ergibt sich zu:

$$a_1 = S_{\left(\frac{M+1}{2}+K\right)}; \quad M = \text{gerade} \quad \text{bzw.} \quad a_1 = \frac{1}{2} \left(S_{\left(\frac{M}{2}+K\right)} + S_{\left(\frac{M}{2}+1+K\right)} \right); \quad M = \text{ungerade} \quad \text{Gl. 62}$$

Der Vertrauensbereich für a_1 ist mit seinen oberen (a_{1o}) bzw. unteren Grenzen (a_{1u}) gegeben durch:

$$a_{1u} = S_{(M1+K)} \leq a_1 \leq a_{1o} = S_{(M2+K)} \quad \text{Gl. 63}$$

$$M_1 = \frac{M - C_\gamma}{2} \quad \text{und} \quad M_2 = M - M_1 + 1 \quad \text{Gl. 64}$$

$$C_\gamma = \omega_{\gamma/2} \sqrt{\frac{N(N-1) \cdot (2N+5)}{18}} \quad \text{Gl. 65}$$

Wobei $\omega_{\gamma/2}$ das $1-(\gamma/2)$ -Quantil der standardisierten Normalverteilung ist ($\omega_{0,025} = 1,96$) [78, 79].

Der Schätzwert des Achsenabschnitts a_0 und dessen obere (a_{0o}) und untere Begrenzung (a_{0u}) des Vertrauensbereichs ergibt sich durch Medianbildung (der Median ist der Wert, der in der Mitte einer Zahlenreihe liegt). Das heißt, die eine Hälfte der Zahlen hat Werte, die kleiner sind als der Median, und die andere Hälfte hat Werte, die größer sind als der Median.

$$a_0 = \text{med}\{x_{iA} - a_1 x_{iR}\}; \quad a_{0u} = \text{med}\{x_{iA} - a_{1u} x_{iR}\}; \quad a_{0o} = \text{med}\{x_{iA} - a_{1o} x_{iR}\} \quad \text{Gl. 66}$$

• Linearitätstest

Zu jedem Wertepaar ($x_{iR}; x_{iA}$) wird nach Gleichung 67 ein Score r_i zugeordnet, wobei l die Anzahl der Punkte wiedergibt, die über der Ausgleichsgeraden liegen ($x_{iA} > a_0 + a_1 x_{iR}$) und L die Anzahl derjenigen, die unterhalb liegen ($x_{iA} < a_0 + a_1 x_{iR}$).

$$r_i = \sqrt{\frac{1}{L}} \quad \text{für } x_{iA} > a_0 + a_1 x_{iR} \quad \text{bzw.} \quad r_i = \sqrt{\frac{L}{1}} \quad \text{für } x_{iA} < a_0 + a_1 x_{iR} \quad \text{Gl. 67}$$

Die Messpunkte werden auf die Regressionsgerade projiziert und die jeweilige Länge d_i der Projektionslinie nach Gleichung 68 berechnet.

$$d_i = \frac{x_{iA} + 1/a_1 x_{iR} - a_0}{\sqrt{1 + 1/a_1^2}} \quad \text{Gl. 68}$$

Nach dem Prinzip einer Cusum-Regelkarte werden die Längen d_i nach aufsteigendem Werten sortiert.

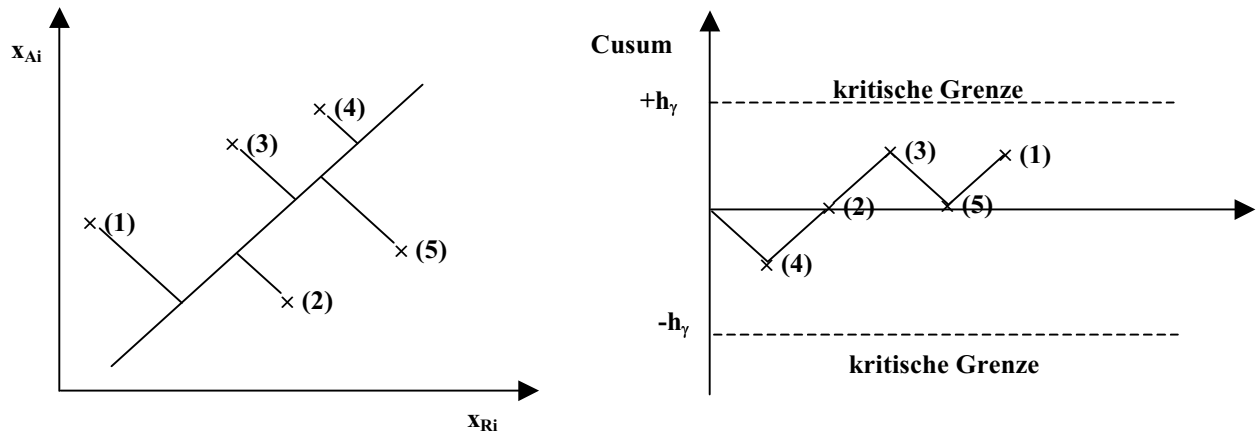


Abb. 8: Sortierung der Werte nach den Längen d und Cusum

Es wird jeweils die kumulative Summe nach Gleichung 69 berechnet und mit der Prüfgröße PG_C (Gleichung 70) verglichen.

$$|\text{cusum}(i)| = \sum_{k=1}^i r_k \quad \text{Gl. 69}$$

r_i = zugeordneter Score (vergleiche Gleichung 67)

$$PG_c = h_\gamma \sqrt{L+1} \quad \text{Gl. 70}$$

Für den Wert $|h_\gamma|$ als kritische Grenze wird ein Wahrscheinlichkeitsniveau von 95 % gewählt ($h_{95\%} = 1,36[78]$).

Die Hypothese des linearen Zusammenhangs zwischen den Werten des Referenz- und Alternativverfahrens kann nicht aufrechterhalten werden, wenn $|\text{cusum}(i)| \geq PG_c$, da dann nicht mehr von einer zufälligen Verteilung der Scores ausgegangen werden kann. Wird die Annahme einer Linearität zwischen Referenz- und Alternativverfahrens bestätigt, so können die Hypothesen $a_0 = 0$ und $a_1 = 1$ überprüft werden.

- **Test der Hypothesen $a_0 = 0$ und $a_1 = 1$**

Befinden sich beide ermittelten Werte für a_0 und a_1 innerhalb der entsprechenden Vertrauensbereiche ($a_{1u} \leq a_1 \leq a_{1o}$ und $a_{0u} \leq a_0 \leq a_{0o}$), werden die Hypothesen $a_0 = 0$ und $a_1 = 1$ akzeptiert. In diesem Fall können die beiden Verfahren als gleichwertig angesehen werden, da sie mit ausreichender statistischer Sicherheit zum selben Ergebnis führen.

4 Experimenteller Teil

4.1 Beschreibung des Analysengeräts ItaChrom EA 101

Die instrumentelle Entwicklung auf dem Gebiet der Isotachophorese beginnt mit der Verfügbarkeit erster kommerzieller Geräte ab dem Jahre 1974. Die ersten Geräte waren durchweg Ein-Kapillaren-Systeme, jedoch bereits 1979 wurde von Everaerts et al. [80] das Konzept der Kapillar-Kopplungstechnik vorgestellt. Die heutigen auf dem Markt befindlichen Geräte folgen diesem Konzept und zwar der Kopplung zweier Kapillaren mit unterschiedlichen Innendurchmessern.

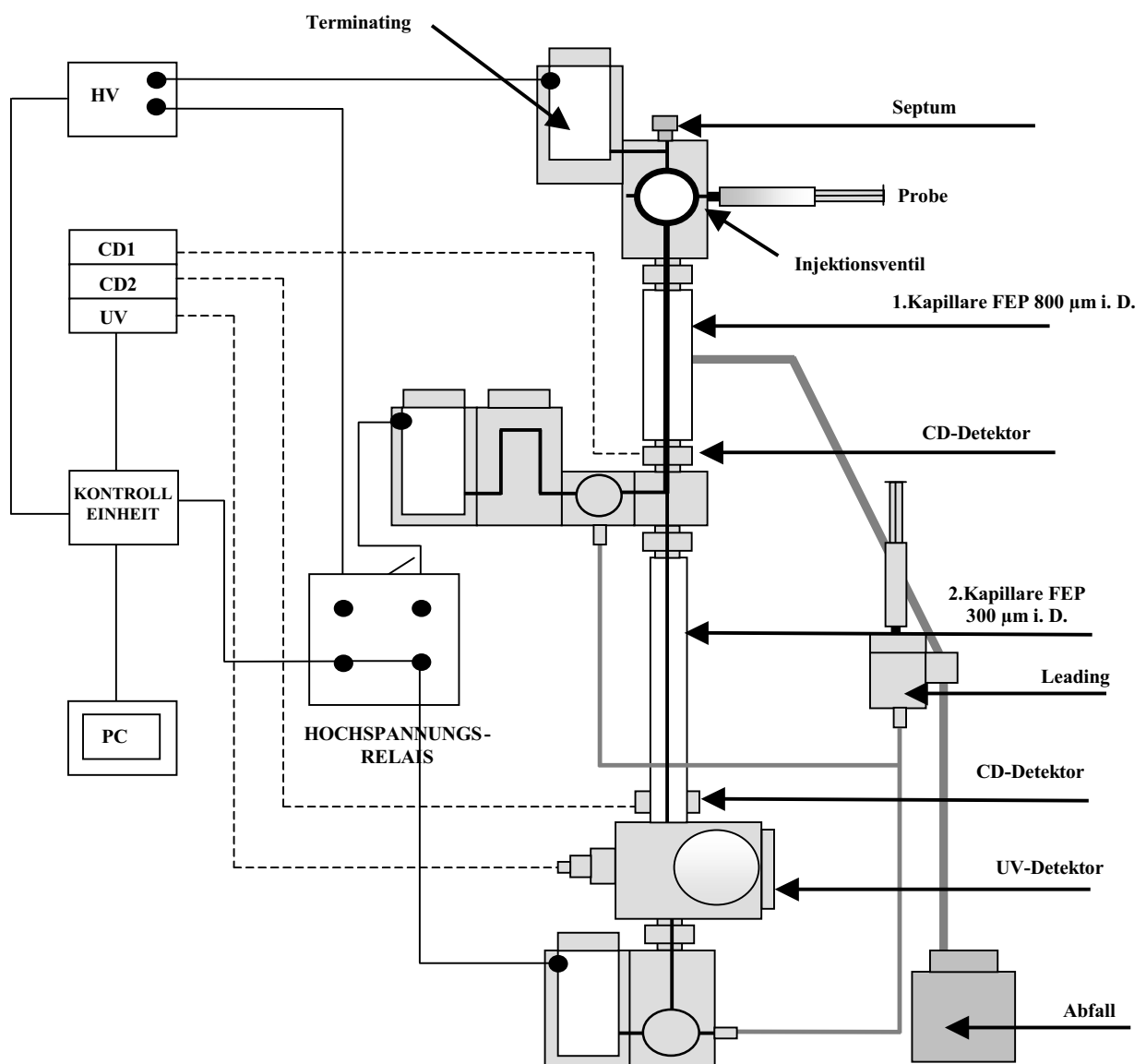


Abb. 9: Schematischer Aufbau des Analysengeräts ItaChrom EA 101

Das Gerät ItaChrom EA 101 entspricht dem Konzept der Kapillar-Kopplungstechnik und verwendet zwei Kapillaren mit unterschiedlichen Innendurchmessern (erste Kapillare $\phi = 800 \mu\text{m}$, zweite Kapillare $\phi = 300 \mu\text{m}$), bestehend aus fluoriertem Ethylen-Propylen-Polymer (FEP). Die Kapillaren sind zum Schutz vor mechanischer Beschädigung und zur besseren Wärmeabfuhr in Plexiglasblöcke eingelassen. Die FEP-Kapillaren zeichnen sich durch einen geringen elektroosmotischen Fluss (EOF) aus, der Nachteil liegt in der mangelnden UV-Transparenz im unteren Wellenlängenbereich ($<220 \text{ nm}$). Das Injektionsventil ermöglicht das Einspritzen eines festgelegten Volumens von $30 \mu\text{l}$ über eine interne Probenschleife (bestehend aus PTFE). Dieser Aufbau gewährleistet eine reproduzierbare Injektion zwischen Leit- und Folgeelektrolyt. Neben der Injektion über Injektionsventil und Probenschleife hat man die Möglichkeit, mit Hilfe einer Injektionsspritze ein variables Volumen von $1 - 100 \mu\text{l}$ durch ein Septum in das System zu geben.

Das ItaChrom EA 101 ist ausgestattet mit einem kompakten Hochspannungsmodul, das eine konstante Stromstärke vom $0 - 500 \mu\text{A}$ bei einer maximalen Spannung bis 20 kV gewährleistet. Die Hochspannungsquelle reguliert mit fortlaufender Dauer der Analyse die Spannung entsprechend der Stromstärke nach. In Zusammenhang mit dem Hochspannungsmodul steht der Überschlagnungsschutz, der das Nachregeln der Spannung nur bis einen maximal eingestellten Wert sichert. Dieser hat sich vor allem im Fall der Bildung von Luftblasen in den Kapillaren bewährt. Luftblasen bewirken einen sehr schnellen und hohen Anstieg der Spannung und in Folge dessen kann es zu Beschädigungen der Elektroden kommen.

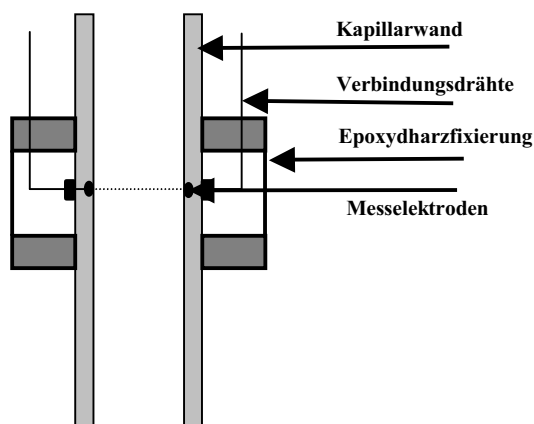


Abb. 10: Schematischer Aufbau der Leitfähigkeitsdetektoren

Das ItaChrom EA 101 ist mit drei Detektoren, zwei Leitfähigkeitsdetektoren und einem UV-Detektor, ausgestattet. Die On-Column-Detektion wird durch zwei Platin-Iridium Messelektroden mit einem Innendurchmesser von $0,04 \text{ mm}$, welche in die Kapillarenwand eingeschmolzen sind, realisiert. Zwischen beiden Messelektroden wird der Widerstand der vorbeiwandernden Zonen im Wechselstrommodus gemessen.

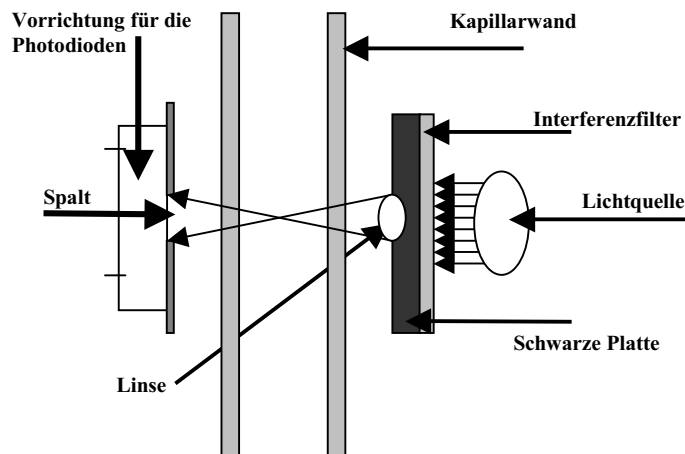


Abb. 11: Schematischer Aufbau des UV-Detektors

Der UV-Detektor ist ein Einstrahl-UV-Absorptions-Photometer. Dabei dient eine kontaktlose Niederdruck-Quecksilber-Argon-Dampflampe als Lichtquelle. Die charakteristischen Emissionslinien liegen bei 185, 254 und 280 nm mit hoher Photonenintensität. Die Lichtintensität wird nach dem Passieren der Kapillare von einer Photodiode registriert. In der praktischen Arbeit traten immer wieder Probleme am Leitfähigkeitsdetektor (Ablagerungen an den Kontakten des Leitfähigkeitsdetektors) in der 2. Säule auf. Vor allem die Bestimmung von Chrom wurde dadurch in erheblichen Maße beeinflusst.

Das ItaChrom EA 101 ist insgesamt modular aufgebaut, einzelne Bauteile sind durch Schraubfixierungen miteinander verbunden und können leicht ausgebaut bzw. ausgetauscht werden.

Die Steuerung des Systems und die Aufzeichnungen der Messungen erfolgen computergestützt mit Hilfe der Software ITPWin 2.31.

Das Analysengerät ItaChrom EA 101 der Fa. Merck KGaA, Darmstadt bietet folgende Möglichkeiten :

- Keine oder minimale Probenvorbereitung.
- Schnelle Analysenzeiten.
- Simultane Bestimmung von Probenkomponenten.
- Praktisch keinen Einfluss von nicht-ionischen Komponenten.
- Sehr geringer Verbrauch von Reagenzien und geringe Abnutzung.

Zum anderen weist das ItaChrom EA 101 die instrumentelle Besonderheiten der Kapillar-Kopplungstechnik auf, die eine Anwendung folgender elektrophoretischer Trennmethode erlauben [81, 82, 83, 84] :

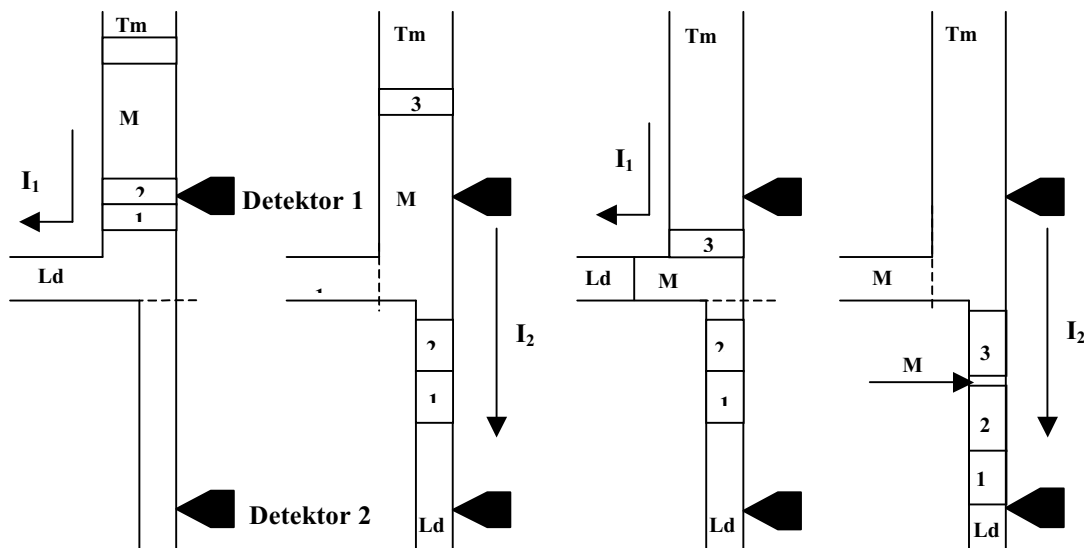
- Eindimensionale Kapillar-Isotachophorese (1D-ITP)
- Zweidimensionale Kapillar-Isotachophorese (2D-ITP)
- Kapillarzonenelektrophorese (CZE) mit einer isotachophoretischen Probenvorbereitung (ITP -CZE)

In Zusammenhang mit den gewählten Laufzeitparametern bietet diese Kapillar-Kopplungstechnik folgende Möglichkeiten:

- Anwendung der Schnitttechnik („heartcutting“). Abtrennung ionischer Überschuskomponenten zur anschließenden Spurenanalyse.
- Injektion großer Probenvolumina, wodurch die Möglichkeit geschaffen ist, niedrige Konzentrationen zuverlässig zu bestimmen.
- Bestimmung der entsprechenden Analyten in der ersten Kapillare (800 μm i. D.) mit anschließender empfindlicherer Detektion der Analyten in der zweiten Kapillare (300 μm i. D.)
- Es wird außerdem die Möglichkeit geboten, die Säulen unterschiedlich zu kombinieren. Das ist dann von Vorteil, wenn z.B. die Geometrie der Vorsäule nicht ausreicht, um die Analytzone quantitativ zu trennen.
- Kopplung von ITP in der Vorsäule und CZE in der analytischen Säule.

Reale Proben zeichnen sich häufig durch extreme Konzentrationsunterschiede zwischen Analyten und Matrixkomponenten aus. Geräte mit nur einer Kapillare (Eindimensionale Kapillar-Isotachophorese) sind aufgrund der begrenzten Beladbarkeit oft nicht in der Lage, eine vollständige Trennung der Analytionen von der Matrix zu erreichen. Abb. 12 veranschaulicht schematisch die Ausschleusung einer Überschuskomponente. Nach dem Passieren des ersten Detektors werden zunächst die Analytzone 1 und 2 in die zweite Kapillare überführt. Anschließend erfolgt die Ausschleusung der Matrixkomponente. Nachfolgend wird die isotachophoretische Trennung in der zweiten Kapillare erreicht.

1. Kapillare 800 μm i.D.



2. Kapillare 300 μm i.D.

a)

b)

c)

d)

Abb. 12: Schematische Darstellung der Schnitttechnik a) isotachophoretische Trennung in der ersten Kapillare b) Überführung der Zonen 1 und 2 in die zweite Kapillare c) Ausschleusung der Matrixkomponente M d) Überführung der Zone 3 und anschließende isotachophoretische Trennung in der zweiten Kapillare; I_1 : Stromstärke in der ersten Kapillare I_2 : Stromstärke in der zweiten Kapillare

Die Anwendung der Schnitttechnik soll hier am Beispiel der Bestimmung der Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} in 100-fachen Überschuss an Ca^{2+} belasteten wässrigen Matrix verdeutlicht werden.

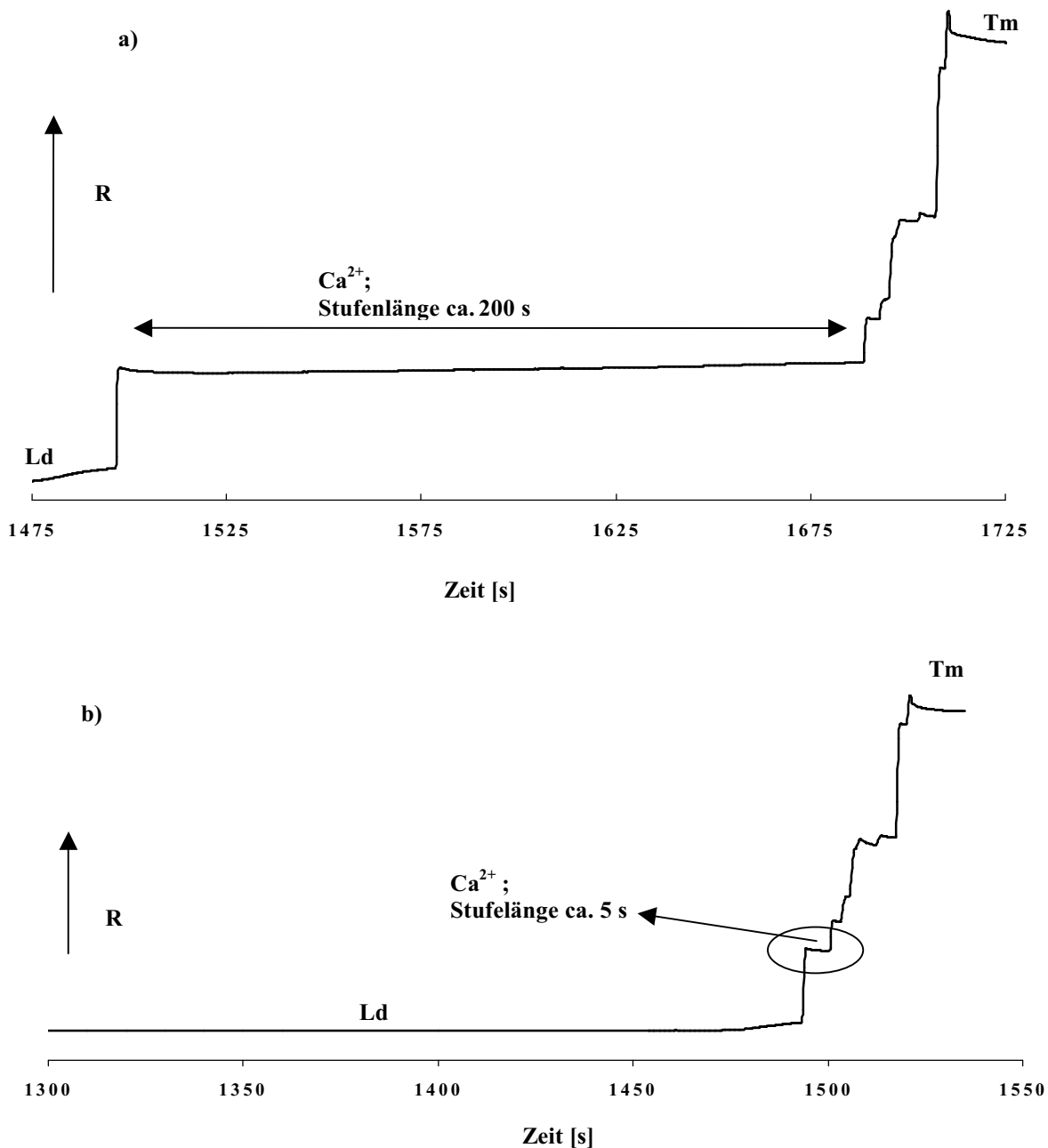


Abb. 13: a) Isotachopherogramm mit Ca^{2+} als Überschuskomponente b) Isotachopherogramm nach Ausschleusung des Hauptteils der Überschuskomponente Ca^{2+}

Deutlich ist im Isotachopherogramm in Abb. 13 der Hauptbestandteil an Ca^{2+} zu erkennen. Die Anwendung der Schnitttechnik erlaubt es fast die gesamte Matrixkomponente Calcium nach dem Passieren des ersten Detektors auszuschleusen. Die Analytionen werden in die zweite analytische Kapillare überführt und ihre quantitative Trennung wird dadurch mit deutlich geringerer Analysenzeit sichergestellt.

4.2 Beschreibung des Analysengeräts Plasma 40

Das Plasma 40 der Fa. Perkin Elmer & Co GmbH, Überlingen, ist ein sequentielles Atomemissionsspektrometer, das ein induktiv gekoppeltes Plasma als Anregungsquelle für die zu bestimmenden Analyten verwendet. Aufgrund der sehr hohen Temperaturen, die mit einem induktiv gekoppelten Plasma erreicht werden, lassen sich auch Metalle, die nur schwer ionisierbar sind, bestimmen. Das Plasma 40 System besteht aus mehreren Komponenten.

Das Spektrometer besteht aus einem hochauflösenden Czerny-Turner-Monochromator mit einer Brennweite von 408 mm, der mit zwei verschiedenen holographischen Gittern bestückt ist. Im Bereich von 160 bis 459 nm wird das Gitter mit 4200 Linien/mm verwendet, während das Gitter mit 1800 Linien/mm im Bereich von 460 bis 800 nm eingesetzt wird. Die Wahl des Gitters für die Messung wird vom Plasma 40 automatisch vorgenommen. Die Verwendung von holographischen Gittern in der ersten Ordnung gewährleistet einen hohen Energiedurchsatz. Zudem zeigen holographische Gitter das beste Streulichtverhalten, das heißt es geht wenig Lichtenergie verloren. Das Gitter wird in Schritten von 0,002 nm mit Hilfe eines Schrittmotors bewegt. Der Monochromator kann mit verschiedenen Gasen gespült werden, um eventuelle Störungen durch Sauerstoff auszuschließen.

Der zur Erzeugung des Plasmas notwendige Hochfrequenzgenerator ist im Plasma 40 integriert und arbeitet freischwingend bei einer Frequenz von 40 MHz. Die Plasmafackel und das Probenzuführungssystem bestehen weitgehend aus dem Kunststoff RytonR. Die Fackel wie auch die argongekühlte Hochfrequenzspule sind in einer speziellen Kammer untergebracht, um einen maximalen Schutz vor Hochfrequenzspannung und UV-Strahlung zu bieten. Für die Zuführung des Plasma- und des Hilfsgases werden Rohre aus Quarzglas verwendet. Die Probe kann entweder durch eine Quarz- oder Aluminiumröhre zugeführt werden. Die Sprühkammer und der Zerstäuber bestehen ebenfalls aus dem Kunststoff RytonR. Sie sind inert gegen 50 %ige Lösungen von HCl, HNO₃, H₂SO₄, H₃PO₄, 20 %ige HF, HCl/HNO₃ und 30 %ige NaOH. Auch gegen organische Lösungsmittel wie Xylol, CCl₄, HCCl₃ ist das Probenzuführungssystem inert.

Zur Steuerung des Plasma 40 Systems wird ein IBM XT/AT Rechner verwendet. Dieses System ermöglicht es dem Benutzer, zur Auswertung der Daten auf eine Softwarebibliothek zurückzugreifen, falls das spezielle, in der Plasma 40 Software integrierte Reportprogramm nicht ausreicht [85].

4.3 Beschreibung der eingesetzten metallselektiven Sorbentien

4.3.1 Kationenaustauscher I, Fa. Merck KGaA, Darmstadt

Das Grundgerüst des Ionenaustauschers I der Fa. Merck Darmstadt besteht aus Polystyrol, das mit Divinylbenzol vernetzt ist und somit einen hochmolekularen dreidimensionalen Aufbau aufweist. Der stark saure Kationenaustauscher besitzt eine Sulfonsäuregruppe $-\text{SO}_3^-$ und stellt in der H^+ -Form eine "feste Säure" oder in der Na^+ -Form ein Salz dar.

Die Quellung und die mechanische Stabilität eines Ionenaustauschers sind vom Vernetzungsgrad, der durch den Anteil an Vernetzer (Divinylbenzol) gesteuert wird, abhängig. So weisen Ionenaustauscher mit niedrigem Vernetzungsgrad ein hohes Quellvermögen und eine geringere mechanische Stabilität auf, während Ionenaustauscher mit einem hohen Vernetzungsgrad ein geringes Quellvermögen und eine hohe mechanische Stabilität aufweisen. In vieler Hinsicht hat sich deshalb ein Vernetzungsgrad von 8% als optimal erwiesen. Der stark saure Kationenaustauscher weist gegenüber Säuren, Basen, organischen Lösungsmitteln sowie reduzierenden und oxidierenden Substanzen eine große Beständigkeit auf.

Die Kapazität ist vom pH-Wert der Austauscherlösung unabhängig. Das Harz kann im sauren, alkalischen oder neutralen Bereich verwendet werden. Mit Hilfe von verdünnten Mineralsäuren HCl (5 – 10 %) oder H₂SO₄ (2 – 4 %) kann der Austauscher vollständig regeneriert werden [86].

4.3.2 Cellulose Hyphan[®], Fa Riedel-de Haen

Cellulose Hyphan[®] ist ein chelatbildender Kationenaustauscher auf Cellulosebasis und enthält als wirksame Chelatgruppe 1-(2-Hydroxyphenylazo)-2-naphthol, das chemisch stabil über eine Ethergruppe an die Cellulosematrix gebunden ist. Die 2,2-Dihydroxyazo-Gruppierung ist komplexchemisch als dreizähliger Chelatligand zu verstehen, der seine Aktivität an der sehr großen, hydrophilen Phasengrenzfläche entfaltet.

Übergangsmetalle bilden mit der 2,2-Dihydroxyazo-Gruppe außerordentlich stabile 1:1 Komplexe. Die Stabilitätskonstanten K_1 von z. B. Kupfer(II)- und Nickel-Komplexen sind $p_{K_1} = 23,3$ bzw. 19,6 [87]. Aufgrund der großen Stabilität der Bindung von 1-(2-Hydroxyphenylazo)-2-naphthol über eine Ethergruppe an die Cellulosematrix tritt in wässrigen Lösungen bei pH 0 – 13 praktisch keine hydrolytische Spaltung ein. Der Austauscher Cellulose-Hyphan kann demzufolge in einer großen Folge von Zyklen mit Schwermetallen angereichert und mit Mineralsäuren entladen werden, ohne dass ein merklicher Kapazitätsverlust eintritt.

Das kinetische Verhalten wird durch die Faserstruktur des Ionenaustauschers bestimmt. In erster Linie ist die Filmkinetik geschwindigkeitsbestimmend für die Einstellung der Ionenaustauschgleichgewichte. Bei der Sorption von Schwermetallen stellen sich die Gleichgewichte innerhalb von 5 – 10 Minuten ein [88]. Die Beladungsgeschwindigkeit des Austauschers ist beim Säulenverfahren sehr hoch, es sind Durchflusgeschwindigkeiten bis zu 20 ml cm⁻² min⁻¹ zulässig. Ebenso schnell kann der Austauscher mit verdünnten Mineralsäuren (2 mol/l) wieder vollständig regeneriert werden.

Die Vorgänge des Be- und Entladens können anhand der Farbänderung des Austauschermaterials verfolgt werden, dabei zeigt die H⁺-Form eine rote und die beladene Form eine dunkelbraune Färbung.

4.3.3 Mischbettaustauscher V, Fa. Merck KGaA, Darmstadt

Der Mischbettaustauscher V ist eine Mischung des stark sauren Kationenaustauscher I (siehe 4.3.1) und dem stark basischen Anionenaustauscher I der Fa. Merck KGaA.

Der stark basische Anionenaustauscher I weist gegenüber Säuren, Alkalien, aliphatischen und aromatischen Lösungsmitteln, sowie reduzierenden und oxidierenden Substanzen eine hohe Beständigkeit auf. Das Harz

spaltet in der OH^- -Form Neutralsalze unter Bildung der Base auf. Das Harz selbst geht in das entsprechende Salz über. Der Ionisierungsgrad der quartären Ammoniumgruppen entspricht dem der Alkalihydroxide. Harze in der OH^- -Form adsorbieren sogar schwache Säuren wie Borsäure und Kieselsäure. Die Austauschkapazität ist unabhängig von dem pH-Wert der Austauschlösung. Zur Regeneration wird eine wässrige NaCl -Lösung (8-10 %) verwendet.

Somit besteht der Mischbettaustauscher V aus den an ihm gebundenen Ionen $\text{SO}_3^- / \text{N}^+(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{OH})$ und den Gegenionen H^+ und OH^- (Lieferform). Der Mischbettaustauscher ist im Labormassstab nicht in die H^+/OH^- -Form regenerierbar. Die Überführung in die Na^+/Cl^- -Form gelingt mit einer 10 %-igen Kochsalzlösung [86].

4.3.4 Adsorberharz Divergan[®] HM, Fa. BASF

Durch den Einbau neuer funktioneller Gruppen entstehen Polyvinylpyrrolidon(PVPP)-analoge mit neuen Eigenschaften. Wählt man z. B. stickstoffhaltige Heterozyklen mit einem pK_a -Wert $\geq 3,8$, so zeigen die erhaltenen Polymere schwermetallkomplexierende Eigenschaften. Durch eine gezielte Auswahl der Bausteine lassen sich selektive Adsorberharze herstellen. Das Monomer Imidazol hat sich dabei als sehr wirkungsvolle Komponente erwiesen. Um Polymere mit Imidazol als Ankergruppe zu erhalten, ersetzt man bei der Herstellung von Polyvinylpyrrolidon (PVPP) das N-Vinylpyrrolidon (NVP) partiell durch N-Vinylimidazol (NVI). Man erhält dann durch Polymerisation in einer wässrigen Lösung mit N,N-Divinylimidazolidon (DVIon) als bifunktionellem Monomer unlösliche, körnige und wenig quellbare Polymere, deren funktionelle Gruppen an einem vernetzten Polyethylengerüst fixiert sind. Das molare Verhältnis der Monomeren ist in einem weiten Bereich variabel. Divergan[®] HM ist ein definiertes Copolymer mit einem NVI/NVP-Verhältnis von 9:1. Aufgrund des schwach basischen Charakters erfolgt in Abhängigkeit vom pH-Wert eine Protonierung der Imidazolanker-Gruppe. Der pK_a -Wert von Divergan[®] HM ist mit 2,6 bestimmt worden. Divergan[®] HM ist ein schwach cremefarbenes Pulver, das in Wasser und organischen Lösungsmitteln nur wenig löslich und quellbar ist.

Divergan[®] HM selektiert unter anderem Chrom(III), Kupfer, Nickel, Zink, Cadmium und Blei. Mit Alkali- und Erdalkalimetallen tritt keine Wechselwirkung auf. Die Komplexbildung mit Schwermetallen erfolgt als koordinative Bindung nach dem Donor-Akzeptor-Prinzip an der elektronenreichsten Stelle des Imidazolkerns. Die Sorption der Metallkationen verläuft gut im neutralen bis schwachsauren pH-Wert-Bereich. In starksauren wässrigen Systemen erfolgt keine Komplexbildung. Auch in Lösungen, die organische Lösungsmittel enthalten, ist eine Wechselwirkung stark eingeschränkt. Das Material ist durch Säurebehandlung regenerierbar. Die Anwendung erfolgt üblicherweise im Batch-Verfahren. Dabei wird das Pulver in das zu behandelnde Medium gebracht und unter Rühren während der Kontaktzeit in Suspension gehalten. Alternativ kann Divergan[®] HM aber auch im Säulen-Verfahren oder in Filterschichten eingesetzt werden [89].

4.4 Übersicht der übrigen Geräte und Chemikalien

Die in den Versuchen verwendeten Chemikalien und Geräte werden in den nachfolgenden Tabellen aufgeführt:

| Chemikalien | Eigenschaften | Bezugsquelle |
|---|---|---|
| Reinstwasser | aus Reinstwasseranlage Labostil® | Fa. Christ, Leonberg |
| Salzsäure | 30 % (suprapur) | Fa. Merck KGaA |
| Salpetersäure | 65 % (suprapur) | Fa. Merck KGaA |
| Natriumhydroxid | p.a. | Fa. Merck KGaA |
| Kaliumhydroxid | p.a. | Fa. Merck KGaA |
| Natriumsulfat | p.a. | Fa. Merck KGaA |
| Multielementstandard IV | Elementkonzentration: 1000 mg/l \pm 10 mg/l in 1 M HNO ₃ | Fa. Merck KGaA |
| Einzelstandards der Elemente: Chrom, Nickel, Kupfer, Zink Cadmium, Blei | Elementkonzentration: 1000 mg/l \pm 10 mg/l in 1 M HNO ₃ | Fa. Merck KGaA |
| Citronensäure | p.a. | Fa. Merck KGaA |
| Natriumsulfat | p.a. | Fa. Merck KGaA |
| Pufferlösung: Phosphat | pH = 6,88 \pm 0,02 (20 °C) | Fa. Merck KGaA |
| Pufferlösung: Citrat Salzsäure | pH = 4,00 \pm 0,02 (20 °C) | Fa. Merck KGaA |
| Glycolsäure | reinst | Fa. Merck KGaA |
| Xylenolorange | reinst | Fa. Merck KGaA |
| β -Alanin | reinst | Fa. Merck KGaA |
| Essigsäure | 96 % suprapur | Fa. Merck KGaA |
| Hydroxiisobuttersäure | reinst | Fa. Merck KGaA |
| 6 Aminocapronsäure | reinst | Fa. Merck KGaA |
| Methylhydroxyethylcellulose | 1 % gereinigt | Laboratory of Environmental Analysis Comenius University, Slovakia |

Tab. 10: Die verwendeten Chemikalien

| Analysengeräte: | Firma: |
|-------------------------------------|----------------------------|
| ItaChrom EA 101 | Fa. Merck KGaA |
| ICP-OES Plasma 40 | Fa. Perkin Elmer & Co GmbH |
| Anreicherungs-system: | Firma: |
| Schlauchpumpe | Fa. Ismatec |
| 8 ml Glassäulen LiChrolut EN System | Fa. Merck KGaA |
| Adapter LiChrolut EN System | Fa. Merck KGaA |
| Fritten LiChrolut EN System | Fa. Merck KGaA |
| PTFE Schläuche Id. 1,5 mm | Fa. Labomatic |
| Sonstige Geräte: | Firma: |
| pH-Meter GG 822 | Fa. Schott |
| Analysenwaage Mettler AE 100 | Fa. Mettler |

Tab. 11: Die verwendeten Geräte

4.5 Auswahl des Austauschersystems zur Anreicherung der Metalle Chrom, Kupfer, Nickel, Zink, Cadmium und Blei

Untersucht wurde das Verhalten der Elemente bei der Anreicherung an unterschiedlichen metallselektiven Sorbentien und deren Kombinationen. Die entsprechenden Versuchsreihen sollten Aufschluss darüber geben, welche metallselektiven Sorbentien bzw. welche Kombinationen die Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei weitgehend aus einer Modelllösung, die in ihrer Salz- und Komplexbildnerkonzentration weitgehend einer realen Proben am Zulauf zur ZABA entspricht, abtrennen.

Zum Einsatz kamen folgende kommerzielle Austauscher bzw. deren Kombinationen:

- Kationenaustauscher I, Fa. Merck KGaA, Darmstadt
- Cellulose Hyphan, Fa. Riedel-de Haen
- Adsorberharz Divergan[®] HM, Fa. BASF
- Mischbettaustauscher V, Fa. Merck KGaA, Darmstadt

Die entsprechenden Kombinationen der oben aufgeführten Austauscher wurden entweder als Schichtbett- oder als Mischbettaustauscher eingesetzt.

• Versuchsbeschreibung:

Zu jeweils 100 ml Reinstwasser wurden als Matrix 2,0 g Citronensäure und 1,0 g Natriumsulfat zugesetzt. Dieser Zusatz entspricht in etwa dem 10-fachen der Salz- bzw. Komplexbildner-Konzentrationen im realen Abwasser am Ablauf der ZABA. Nach Dotierung der Lösungen mit den Elementen Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei (Einzelstandards wurden zur Dotierung verwendet) entspricht die Konzentration je Element in der Versuchslösung 1 mg/l. Der pH-Wert wurde mit Hilfe verdünnter Salzsäure bzw. Natronlauge auf 2, 4, 6 bzw. 8 eingestellt. Die so dotierten Proben wurden mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 20 ml/min über das Austauschersystem zur Anreicherung geschickt. Anschließend wurde mit 25 ml 2 M HCl eluiert worden. Das erhaltene Eluat mit einem Volumen von 25 ml wurde mit Reinstwasser auf 50 ml aufgefüllt und die Elementkonzentrationen wurden mittels ICP-OES bestimmt.

• Ergebnisse:

Die Ergebnisse, die mit dem Adsorberharz Divergan[®] HM (Fa. BASF) und dem Mischbettaustauscher V (Fa. Merck KGaA) erzielt worden sind, waren zum grossen Teil nicht reproduzierbar und daher für den weiteren Einsatz zur Bestimmung der entsprechenden Analyten nicht geeignet.

Folgend werden die Ergebnisse dargestellt, die mit den Austauschern Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA), Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) und einer Kombination aus beiden erzielt worden sind.

Die dargestellten Wiederfindungsraten stellen Mittelwerte aus jeweils vier unabhängigen Messungen unter gleichen Bedingungen dar.

| pH 2: Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 4; RSD [%] | | | | | | |
|--|-----------------------|-----|---------------|-----|--------------------------------|-----|
| Element | Kationenaustauscher I | | Hyphan | | Entwickeltes Austauschersystem | |
| | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD |
| Cr | 102 | 7 | 25 | 11 | 100 | 2 |
| Ni | 102 | 3 | 15 | 12 | 101 | 3 |
| Cu | 59 | 10 | 99 | 2 | 103 | 7 |
| Zn | 82 | 8 | 7 | 32 | 101 | 5 |
| Cd | 81 | 9 | 7 | 48 | 103 | 7 |
| Pb | 91 | 7 | 84 | 4 | 99 | 6 |
| pH 4: Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 4; RSD [%] | | | | | | |
| Element | Kationenaustauscher I | | Hyphan | | Entwickeltes Austauschersystem | |
| | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD |
| Cr | 66 | 6 | 37 | 7 | 106 | 6 |
| Ni | 15 | 17 | 23 | 10 | 101 | 3 |
| Cu | 5 | 46 | 101 | 7 | 101 | 4 |
| Zn | 7 | 47 | 7 | 38 | 99 | 3 |
| Cd | 22 | 23 | 8 | 15 | 102 | 3 |
| Pb | 43 | 11 | 51 | 4 | 100 | 7 |
| pH 6: Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 4; RSD [%] | | | | | | |
| Element | Kationenaustauscher I | | Hyphan | | Entwickeltes Austauschersystem | |
| | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD |
| Cr | 20 | 12 | 45 | 7 | 97 | 2 |
| Ni | 14 | 34 | 29 | 8 | 44 | 9 |
| Cu | 9 | 27 | 99 | 3 | 94 | 8 |
| Zn | 4 | 33 | 7 | 32 | 30 | 14 |
| Cd | 3 | 83 | 8 | 20 | 45 | 7 |
| Pb | 11 | 20 | 43 | 12 | 82 | 5 |
| pH 8: Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 4; RSD [%] | | | | | | |
| Element | Kationenaustauscher I | | Hyphan | | Entwickeltes Austauschersystem | |
| | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD | Wiederfindung | RSD |
| Cr | 30 | 20 | 32 | 13 | 57 | 11 |
| Ni | 12 | 28 | 60 | 12 | 61 | 16 |
| Cu | 11 | 42 | 83 | 5 | 90 | 4 |
| Zn | 6 | 51 | 83 | 3 | 31 | 16 |
| Cd | 7 | 31 | 36 | 30 | 22 | 19 |
| Pb | 11 | 21 | 47 | 10 | 85 | 6 |

Tab. 12: Darstellung der Wiederfindungsraten der Elemente bei pH 8

In Abb. 14 sind die in den Ergebnissen beschriebenen Austauscher bzw. Kombinationen dargestellt.

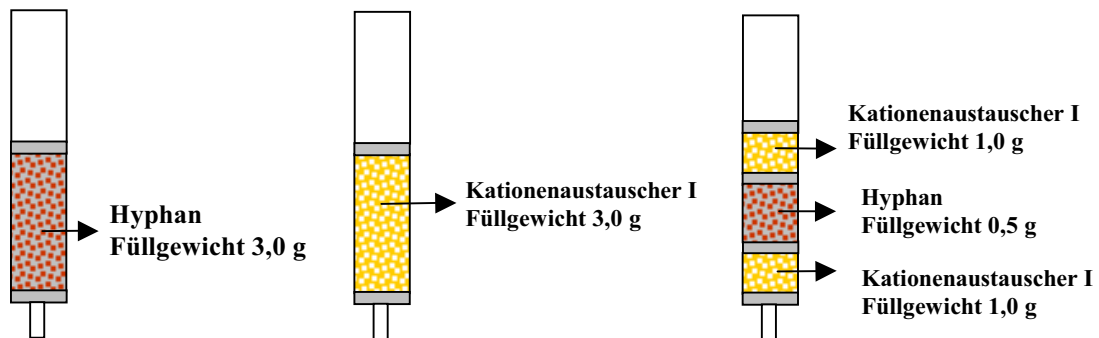


Abb. 14: Schematische Darstellung der in den Ergebnissen beschriebenen Austauscher bzw. Kombinationen

Das entwickelte Austauschersystem (Kationenaustauscher I (Fa. Merck) - Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) - Kationenaustauscher I zeigt im Vergleich zum alleinigen Einsatz der Chelataustauscher Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) bzw. des Kationenaustauscher I wesentlich bessere Wiederfindungsraten für die Elemente Cr, Ni, Cu, Zn, Cd und Pb in einem pH-Wert-Bereich der Probelösungen von 2 bis 8. Eine Kombination von Kationenaustauscher I und Hyphan zeigt im Vergleich zum entwickelten Austauschersystem ebenfalls wesentlich schlechtere Wiederfindungsraten. Das lässt darauf schließen, dass während des Durchlauf durch den Kationenaustauscher I und Hyphan, sich die Zusammensetzung der Probelösung ändert und somit die 3. Komponente (Kationenaustauscher I) des entwickelten Austauschersystems ihre Wirkung entfalten kann.

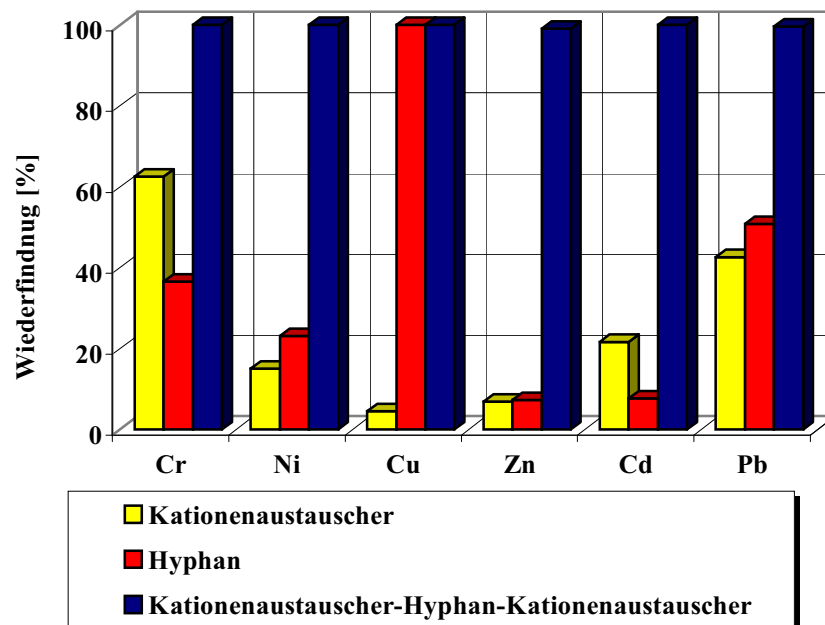


Abb. 15: Vergleich der Wiederfindungsraten; pH-Wert der Probelösung ist pH 4

Die verwendeten Austauscher zeigen bei höheren pH-Werten mit gegebener Matrix schlechtere Wiederfindungsraten für die entsprechenden Elemente.

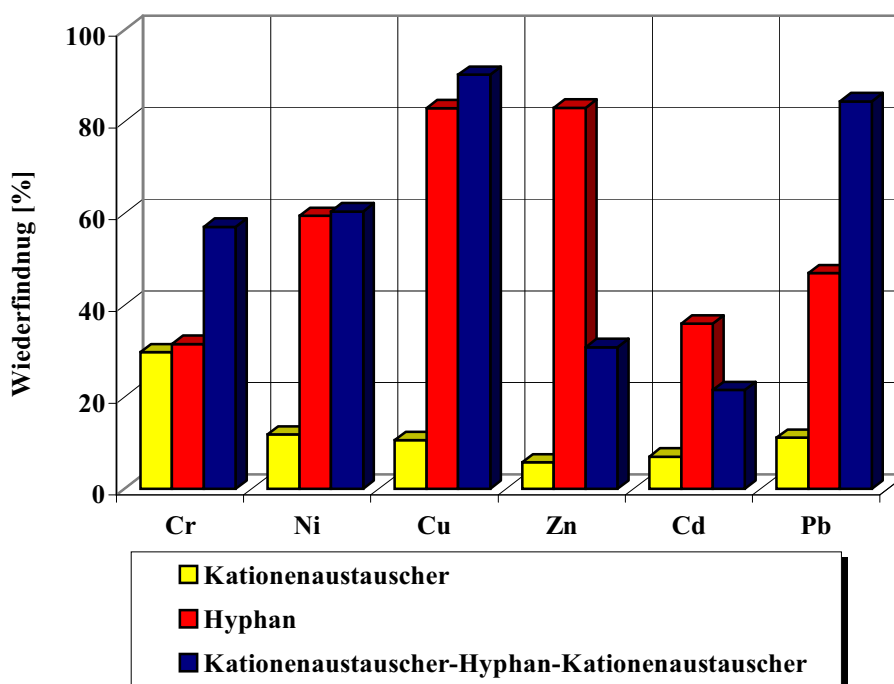


Abb. 16: Vergleich der Wiederfindungsraten; pH-Wert der Probelösung ist pH 8

Um die Wiederfindungsraten der Elemente in den einzelnen Komponenten der Austauscherkombination bestimmen zu können, sind die Versuche soweit abgeändert worden, dass die einzelnen Komponenten getrennt in Säulen gepackt und diese dann in Reihe geschaltet worden sind. Nach Anreicherung aus Probelösungen (pH-Wert-Bereich 2 bis 4) sind die Säulen getrennt und jede einzelne Säule ist mit 25 ml 2 M HCl eluiert worden. Es zeigt sich, dass alle drei Austauscherkomponenten bei der Anreicherung der Elemente eine Rolle spielen.

| pH 4 Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 3 | Cr | Ni | Cu | Zn | Cd | Pb |
|---|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|
| Säule 1 Kationenaustauscher I | 93 | 58 | 0 | 60 | 43 | 46 |
| rel Std [%] | 5 | 10 | keine | 2 | 6 | 21 |
| Säule 2 Hyphan | 0 | 5 | 100 | 9 | 4 | 26 |
| rel Std [%] | keine | 16 | 1 | 7 | 22 | 26 |
| Säule 3 Kationenaustauscher I | 6 | 36 | 0 | 32 | 50 | 27 |
| rel Std [%] | 42 | 14 | keine | 3 | 12 | 17 |
| gesamt | 99 | 99 | 100 | 101 | 97 | 99 |

Tab. 13: Darstellung der Wiederfindungsraten in den einzelnen Austauscherkomponenten; pH-Wert der Probelösung: pH 4

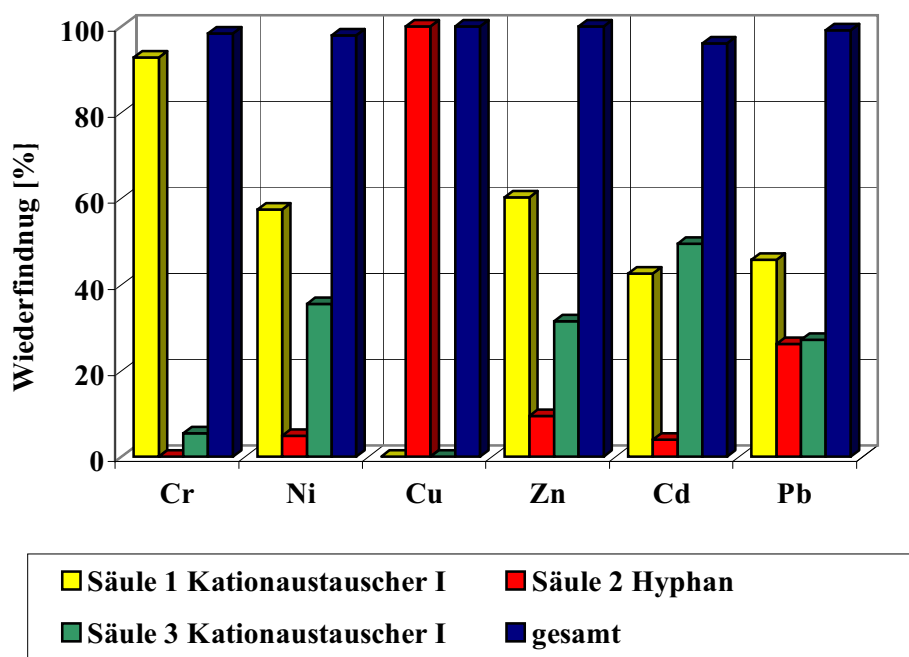


Abb. 17: Darstellung der Wiederfindungsraten in den einzelnen Austauscherkomponenten; pHWert der Probelösung: pH 4

Die Anreicherung der Elemente an den einzelnen Austauscherkomponenten ist vom pH -Wert abhängig bzw. abhängig von der jeweiligen chemischen Form der Elemente bei den eingestellten pH -Werten. Deutlich wird das am Beispiel der Wiederfindung für Blei in den entsprechenden Austauscherkomponenten.

| Pb Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 3 | pH 2,0 | pH 2,5 | pH 3,0 | pH 3,5 | pH 4 |
|---|-----------|------------|-----------|-----------|------------|
| Säule 1 Kationenaustauscher I | 60 | 58 | 58 | 46 | 46 |
| RSD [%] | 2 | 6 | 2 | 5 | 20 |
| Säule 2 Hyphan | 0 | 0 | 21 | 24 | 27 |
| RSD [%] | keine | keine | 7 | 18 | 26 |
| Säule 3 Kationenaustauscher I | 37 | 42 | 19 | 26 | 27 |
| RSD [%] | 5 | 4 | 9 | 24 | 17 |
| gesamt | 97 | 100 | 98 | 96 | 100 |

Tab. 14: Darstellung der Wiederfindungsraten in den einzelnen Austauscherkomponenten am Beispiel für Blei; pH-Wert der Probelösungen: pH 2 bis pH 4

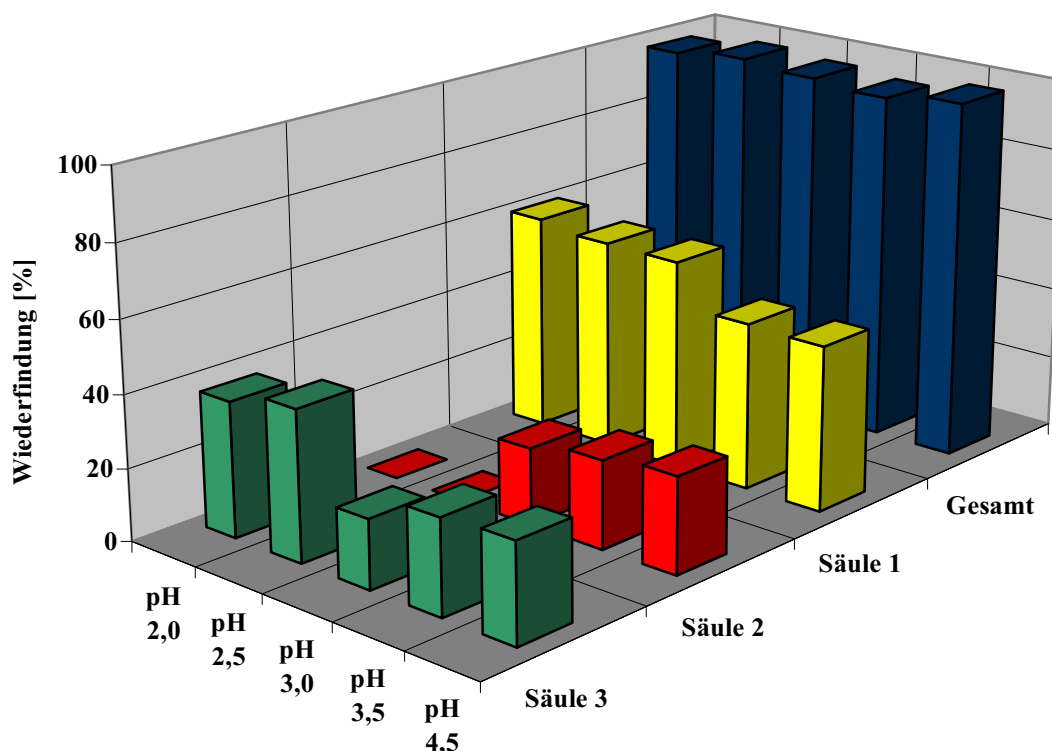


Abb. 18: Darstellung der Wiederfindungsraten in den einzelnen Austauscherkomponenten am Beispiel für Blei; pH-Wert der Probelösungen von pH 2 bis pH 4; Säule 1 und 2 = Kationenaustauscher I und Säule 3 = Hyphan

Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse für die Wiederfindungen der Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei (vergleiche Tab. 12), ist die Kombination aus Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA) - Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) – Kationenaustauscher I (eingesetzt als Schichtbett- Austauscher) für die optimale Anreicherung der Elemente ausgewählt worden.

4.6 Optimierung der Elutionsparameter

Zur Optimierung der Elutionsparameter für die Wiederfindung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei aus realen Abwasserproben wurden folgende Parameter variiert. Als Elutionsmittel wurden die Mineralsäuren HCl (im Konzentrationsbereich von 0,5 M bis 2 M) und HNO₃ (in den Konzentrationen von 2 M und 2,6 M HNO₃) eingesetzt. Das Elutionsvolumen wurde zwischen 5 ml und 25 ml variiert.

Als Austauschersystem wurde das Schichtbettaustauschersystem Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA – Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) - Kationenaustauscher I (vergleiche Abschnitt 4.5 beschrieben) eingesetzt.

Als Proben kamen die realen Abwasserproben R_19.2.98, R_25.5.98 und R_22.6.98 zum Einsatz. Diese Proben sind am Zulauf zur ZABA (Gebäude T55) als 2h-Mischwasserproben entnommen worden. Die Blindwerte der realen Proben sind nach DIN 36406 bestimmt worden (Abschnitt 1.4).

Nach Dotierung der realen Proben mit den Elementen Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei (Einzelstandards wurden zur Dotierung verwendet) entspricht die Konzentration pro Element in den realen Proben zwischen 0,5 bis 3 mg/l. Der pH-Wert ist mit Hilfe verdünnter Salzsäure bzw. Natronlauge auf 2 bis 4 eingestellt worden. Die so dotierten Proben wurden mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 20 ml/min über das Austauschersystem zur Anreicherung geführt.

Anschließend wurde mit unterschiedlichen Elutionsmitteln und Bedingungen eluiert. Das erhaltene Eluat ist mit Reinstwasser auf 50 ml aufgefüllt und die Elementkonzentrationen mittels ICP -OES bestimmt worden.

In Tab. 15 sind die erhaltenen Wiederfindungswerte in Abhängigkeit der Elutionsparameter zusammengestellt. Dabei ist zu berücksichtigen, dass jeder Wert als Mittelwert aus den Einzelbestimmungen von drei Proben für jeden Elutionsparameter berechnet wurde.

Die bei Einzelbestimmungen ermittelten Gehalte sind jeweils mit den nach DIN 38406 bestimmten Blindwert korrigiert worden.

| Wiederfindung [%] \bar{x} aus n = 3 | Elutionsmittel und –volumina | | | | | | | | |
|--|------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| | HCl 0,5 M 25 ml | HCl 1 M 25 ml | HCl 2 M 5 ml | HCl 2 M 10 ml | HCl 2 M 15 ml | HCl 2 M 20 ml | HCl 2 M 25 ml | HNO ₃ 2 M 25 ml | HNO ₃ 15 % 25 ml |
| Cr ³⁺ | 2,54 | 10,51 | 9,60 | 35,90 | 30,38 | 61,12 | 81,95 | 52,88 | 51,40 |
| rel. Std. [%] | 78,09 | 11,01 | 53,75 | 2,19 | 16,65 | 13,01 | 16,59 | 6,86 | 4,51 |
| Ni ²⁺ | 6,75 | 21,38 | 25,35 | 47,62 | 74,85 | 76,44 | 79,38 | 79,86 | 81,34 |
| rel. Std. [%] | 11,56 | 11,17 | 7,70 | 3,81 | 2,71 | 5,56 | 2,37 | 6,34 | 9,69 |
| Cu ²⁺ | 1,69 | 23,10 | 24,21 | 49,44 | 64,96 | 80,76 | 81,59 | 84,63 | 83,06 |
| rel. Std. [%] | 34,03 | 8,89 | 17,90 | 0,49 | 1,72 | 7,03 | 3,45 | 6,56 | 7,84 |
| Zn ²⁺ | 1,61 | 8,27 | 24,42 | 48,73 | 50,88 | 78,65 | 77,38 | 77,05 | 77,0 |
| rel. Std. [%] | 61,64 | 9,91 | 13,04 | 2,36 | 4,16 | 2,13 | 2,66 | 5,88 | 1,17 |
| Cd ²⁺ | 34,64 | 75,56 | 81,92 | 81,46 | 87,07 | 84,19 | 83,24 | 51,74 | 77,05 |
| rel. Std. [%] | 25,30 | 5,11 | 1,49 | 3,56 | 1,91 | 1,50 | 3,66 | 13,70 | 4,00 |
| Pb ²⁺ | 4,47 | 24,46 | 62,97 | 57,12 | 54,36 | 83,43 | 81,75 | 75,61 | 78,29 |
| rel. Std. [%] | 47,08 | 21,84 | 7,49 | 2,90 | 5,82 | 11,35 | 6,20 | 0,95 | 3,12 |

Tab. 15: Optimierung der Elutionsparameter

Es hat sich gezeigt, dass 2 M HCl mit einem Elutionsvolumen von 25 ml unter gegebenen Bedingungen die besten Ergebnisse erzielt. Alle Elemente sind unter diesen Bedingungen gleichmäßig zu etwa 80 % wiedergefunden worden.

Das hatte zur Folge, dass für alle Versuche zur Anreicherung der Elemente 25 ml 2 M HCl als Elutionsmittel verwendet worden ist.

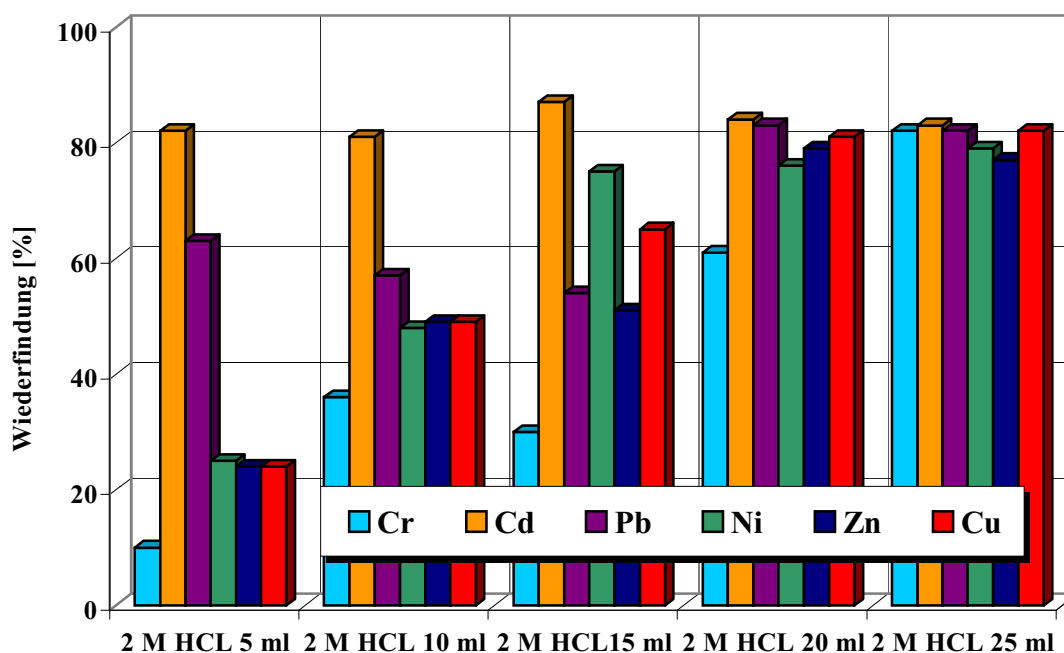


Abb. 19: Darstellung der Wiederfindung für 2 M HCl mit unterschiedlichem Elutionsvolumen

4.7 Anreicherung am Austauschersystem aus Realproben

Als Austauschersystem wurde die Schichtbettanordnung Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA) - Hyphan (Fa. Riedel-de Haen) - Kationenaustauscher I (vergleiche Abschnitt 4.5) eingesetzt.

Untersucht worden ist die Wiederfindung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei nach Anreicherung und Elution mit 25 ml 2 M HCl aus realen Proben.

Die realen Proben stammen aus Entnahmestellen, die in Tab. 16 zusammengestellt sind:

| Entnahmestelle | Bezeichnung | Probenart |
|-----------------|--|-----------------------------|
| Zulauf ZABA T55 | R_14.4.97 (April 97), R_08.7.97 (Juli 97), R_10.8.97 (August 97), R_16.2.98 (Februar 98), R_17.2.98 (Februar 98), R_19.2.98 (Februar 98), R_24.4.98 (April 98), R_21.5.98 (Mai 98) R_26.5.98 (Mai 98), R_28.5.98 (Mai 98), R_25.6.98 (Juni 98) R_26.6.98 (Juni 98) | 24 h und 2 h Mischproben |
| Ablauf T 31 | R_24.5.98 (Mai 98) | 24 h Mischproben |

Tab. 16: Probenahme an den Entnahmestellen für reale Abwasserproben

Die Probenahme erfolgte automatisch und durchflussproportional, d. h. es wurden konstante Probevolumina in variablen Zeitintervallen entnommen. Über einen festgelegten Zeitraum der Entnahme wurden repräsentative Mischproben erhalten. Die Entnahme der Proben erfolgte im Zeitraum von April 97 bis Mai 98.

• Versuchsdurchführung:

Die realen Proben wurden hinsichtlich ihrer Farben, ihres pH-Wertes und ihres Geruchs charakterisiert (vergleiche Abschnitt 2.1). Die real in den ursprünglichen Proben existierenden Elementkonzentrationen wurden nach DIN 38406 bestimmt. Jeweils 100 ml der Proben wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen der einzelnen zu bestimmenden Elemente (Einzelstandards, Fa. Merck KGaA) dotiert, um darzustellen, dass die Anreicherung der Elemente am Austauschersystem unabhängig ist von der Analytkonzentration bis zu einer Konzentration von 1 mg/l Analyt.

• Ergebnisse:

Der Grubbs-Test ist dann angewendet worden, wenn eine Serie von Analysenergebnissen einen oder mehrere Werte enthalten hat, der oder die am weitesten vom Mittelwert entfernt lagen, weil dadurch das Gesamtergebnis von diesen Werten erheblich beeinflusst worden wäre.

Die Aufdeckung solcher einzelner Ausreißerwerte erfolgt nach dem schon erwähnten Grubbs-Test. Dazu werden zunächst der Mittelwert \bar{x} und die Standardabweichung s der Messwerte ermittelt. Der Analysenwert x^* , der die größte Differenz zum Mittelwert aufweist, wird nach folgender Bedingungsgleichungen getestet:

$$PG_G = \frac{|x^* - \bar{x}|}{s} \quad \text{mit} \quad s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Gl. 71}$$

Die Prüfgröße PG wird mit dem Grubbs-Tabellenwert $r_M(N, P \%)$ für die Zahl der Freiheitsgrade $f = N$ und der statistischen Sicherheit P in Beziehung gesetzt. Für $PG_G > r_{M,P,f} (P = 95\%)$ besteht ein signifikanter Unterschied zwischen x^* und \bar{x} , d. h. der ermittelte Analysenwert x^* wird als Ausreißer aus dem Datensatz eliminiert. Mittelwert und Standardabweichung werden aus den verbleibenden Analysendaten neu berechnet. Weitere ausreißerverdächtige Einzelwerte werden mit jeweils neu berechneten Mittelwert und Standardabweichung nacheinander getestet [69]. In Tab. 17 sind die erhaltenen Wiederfindungen dargestellt. Von den ermittelten Werten der Einzelbestimmungen wurde jeweils der nach DIN 38406 bestimmte Blindwert abgezogen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass sich der Mittelwert aus den entsprechenden Einzelbestimmungen aller Proben zusammensetzt.

| | Cr | Ni | Cu | Zn | Cd | Pb |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Anzahl der gemessenen Probenlösungen | 30 | 78 | 78 | 77 | 77 | 77 |
| Anzahl der Ausreißer | 2 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 |
| Wiederfindung; Mittelwert [%] | 79 | 79 | 81 | 81 | 79 | 81 |
| RSD [%] | 14 | 8 | 8 | 11 | 7 | 11 |

Tab. 17: Darstellung der Wiederfindungsraten

Die Wiederfindungsraten lagen für alle Analyten zwischen 79 und 81 %. Die relativen Standardabweichungen (RSD) variierten von 7 bis 14 %. Aus den Wiederfindungsraten und ihren relativen Standardabweichungen ist zu erkennen, dass die Analyten Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei in gleichem Maße am Austauschersystem angereichert werden. In den Abbildungen 20 bis 25 sind die Wiederfindungen der einzelnen Analyten dargestellt.

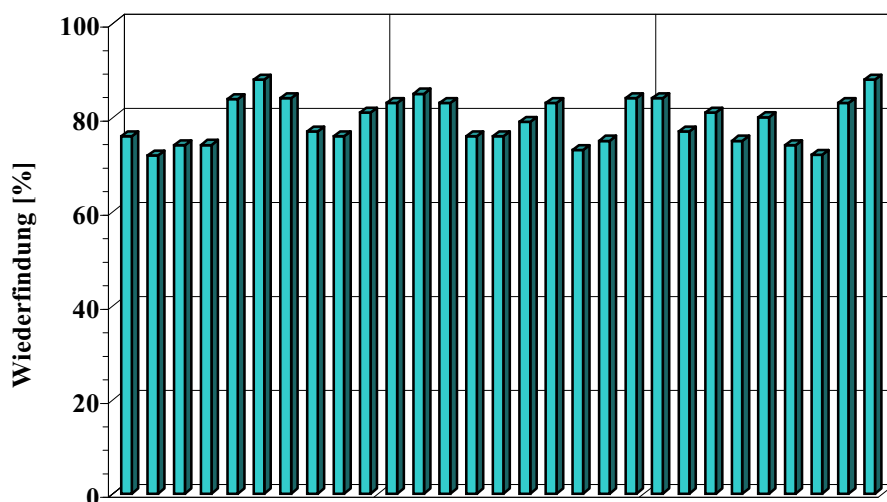


Abb. 20: Darstellung der Wiederfindungsraten für Chrom

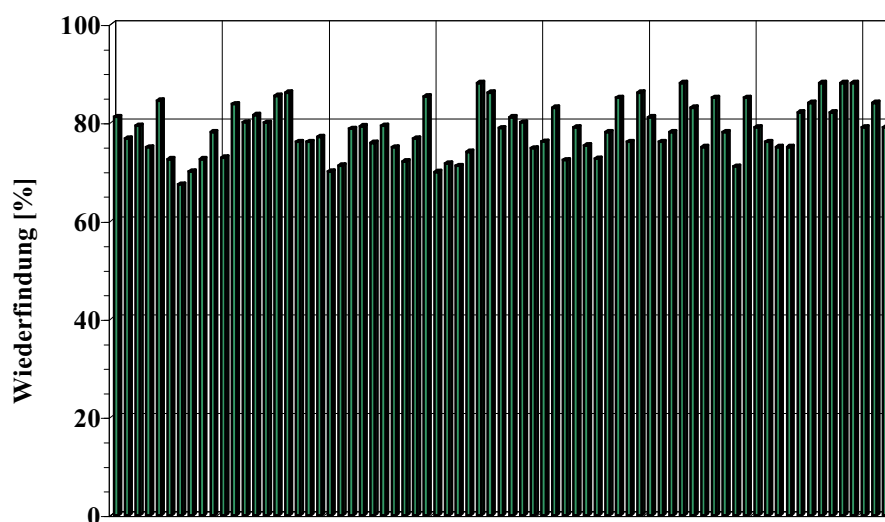


Abb. 21: Darstellung der Wiederfindungsraten für Nickel

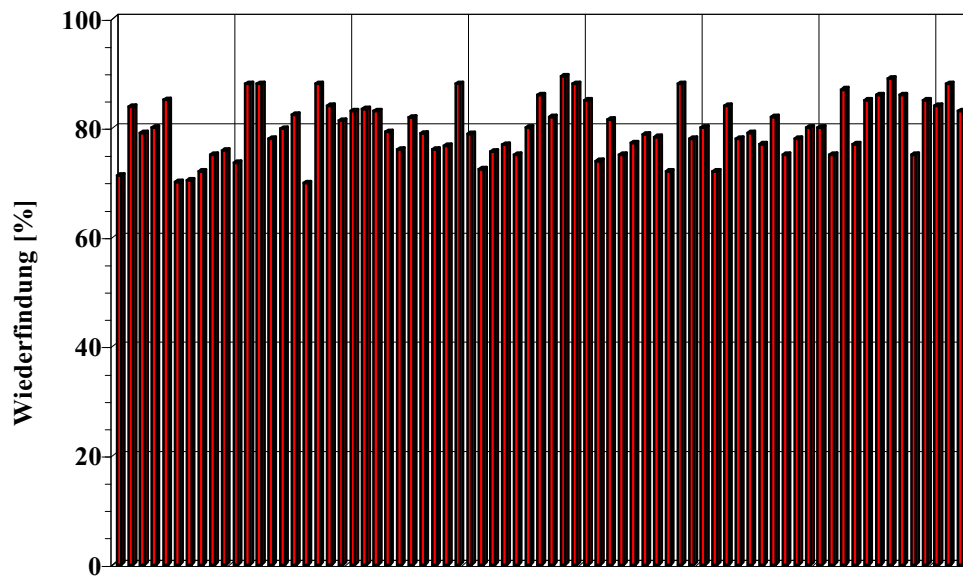


Abb. 22: Darstellung der Wiederfindungsraten für Kupfer

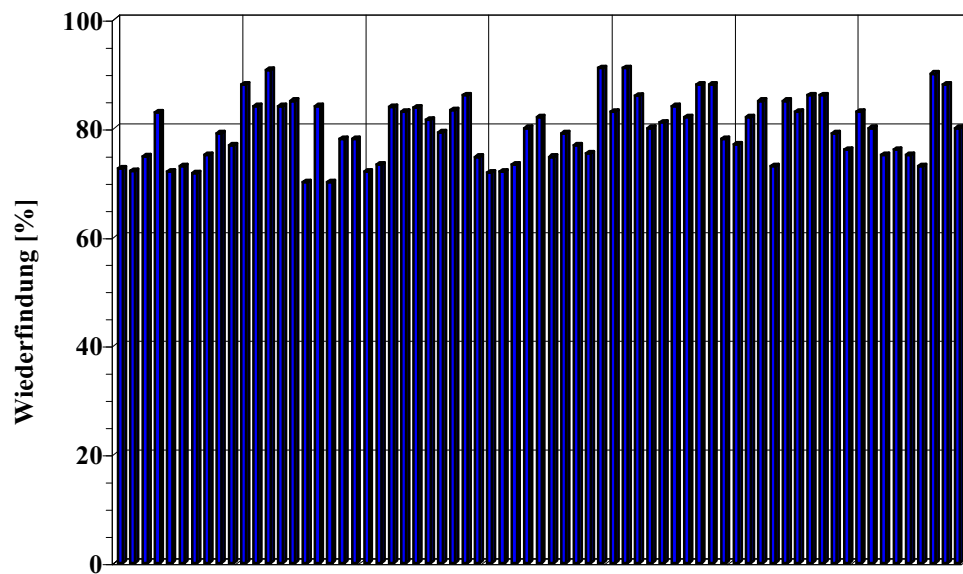


Abb. 23: Darstellung der Wiederfindungsraten für Zink

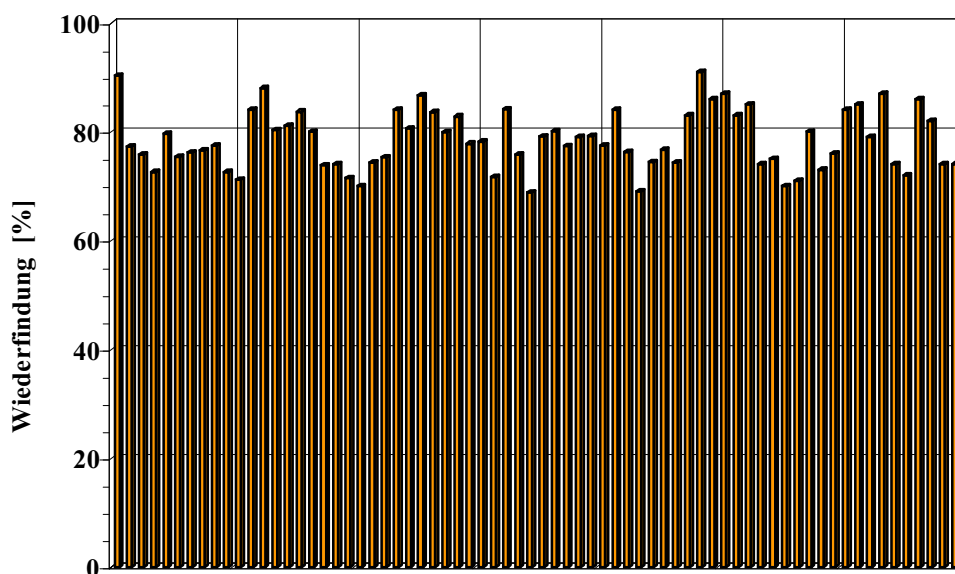


Abb. 24: Darstellung der Wiederfindungsraten für Cadmium

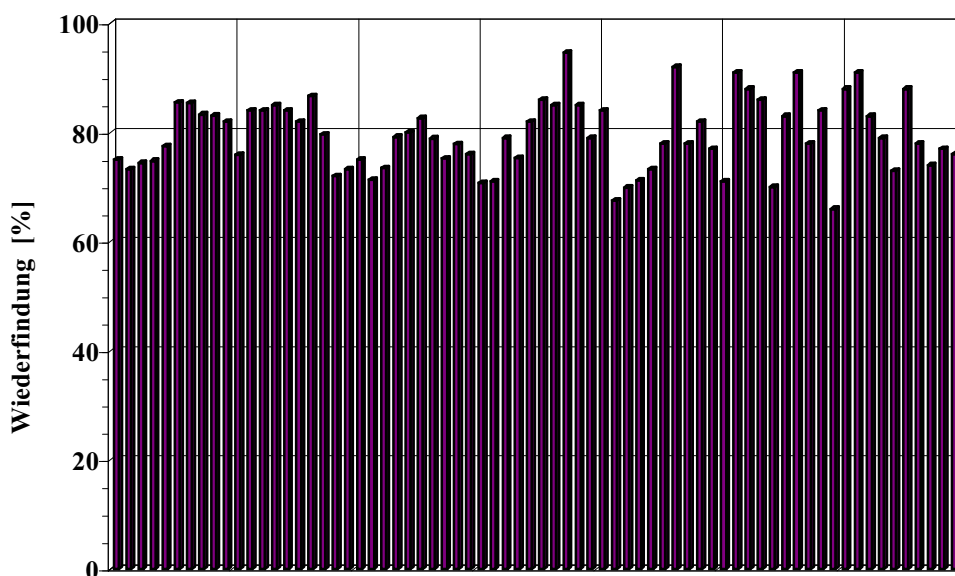


Abb. 25: Darstellung der Wiederfindungsraten für Blei

Um die Abhängigkeit der Wiederfindung von der Analytkonzentration darzustellen, wurden für verschiedene Dotierungen (50 bis 1000 $\mu\text{g/l}$) der realen Proben die Wiederfindungen der Analyten bestimmt. Aus den Abbildungen 26 bis 31 ist zu erkennen, dass die Anreicherung der Analyten aus Abwasserproben am verwendeten Austauschersystem unabhängig von der Analytkonzentration in den realen Proben linear bis 1000 $\mu\text{g/l}$ ist.

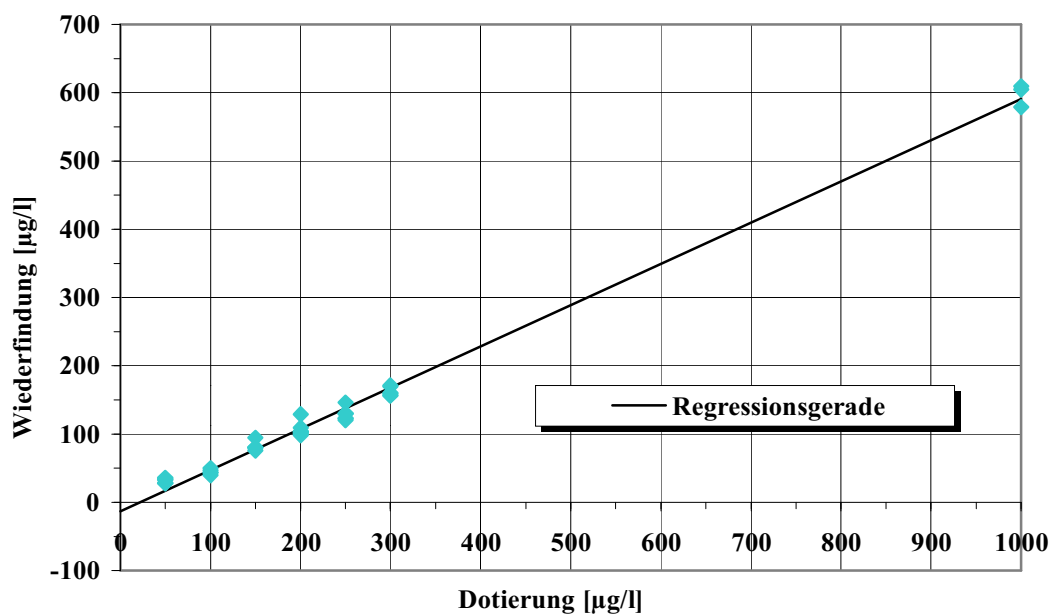


Abb. 26: Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Chrom für verschiedene Analytkonzentrationen

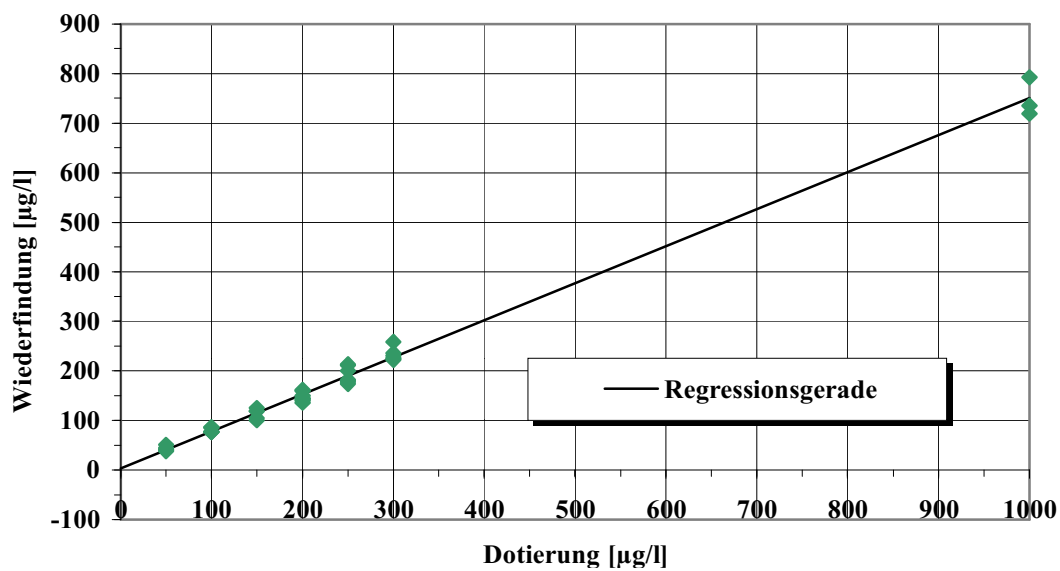


Abb. 27: Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Nickel für verschiedene Analytkonzentrationen

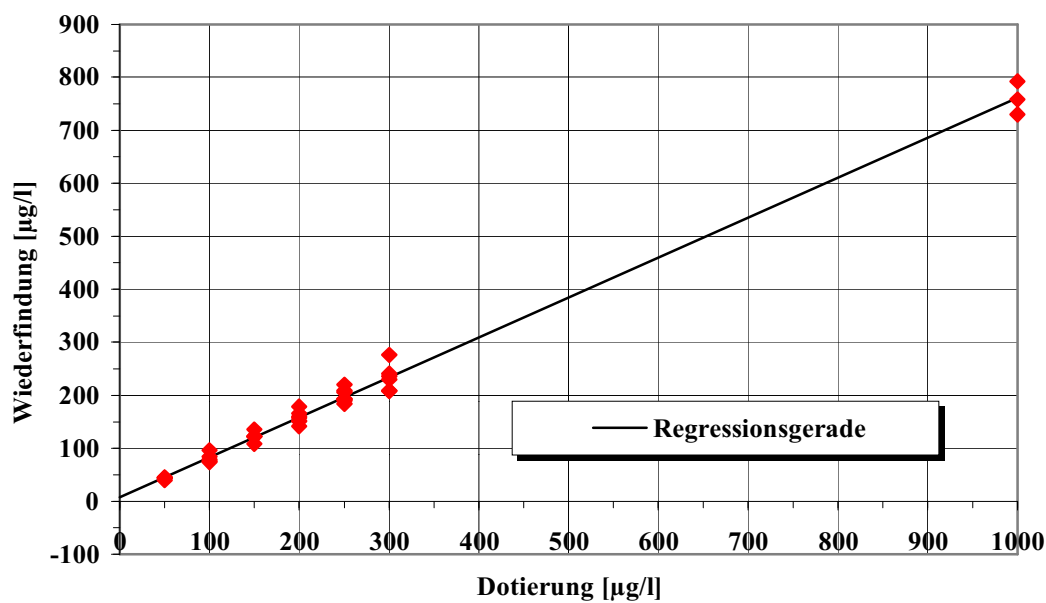


Abb. 28: Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Kupfer für verschiedene Analytkonzentrationen

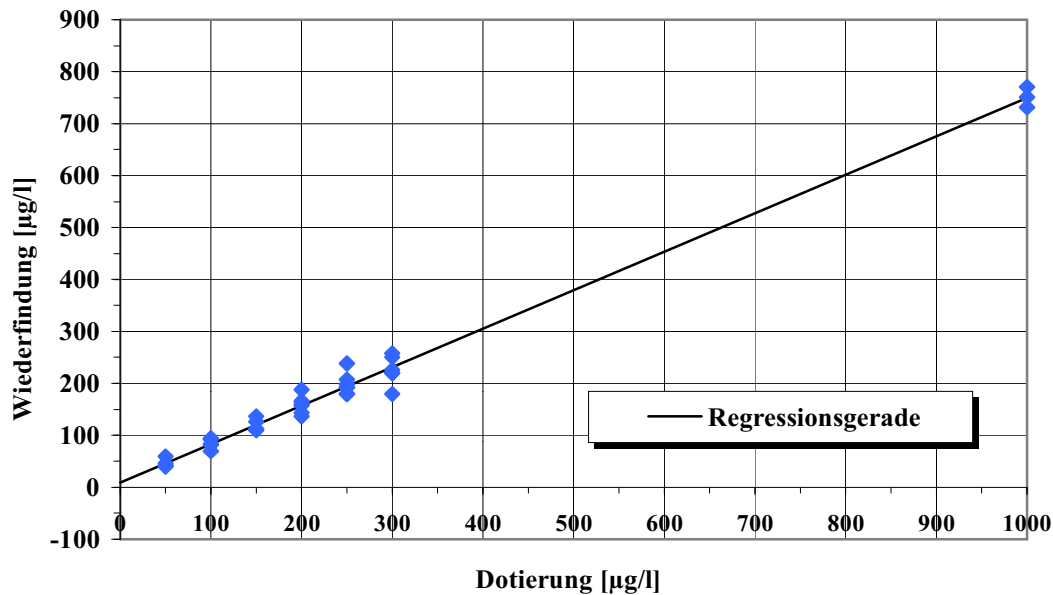


Abb. 29: Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Zink für verschiedene Analytkonzentrationen

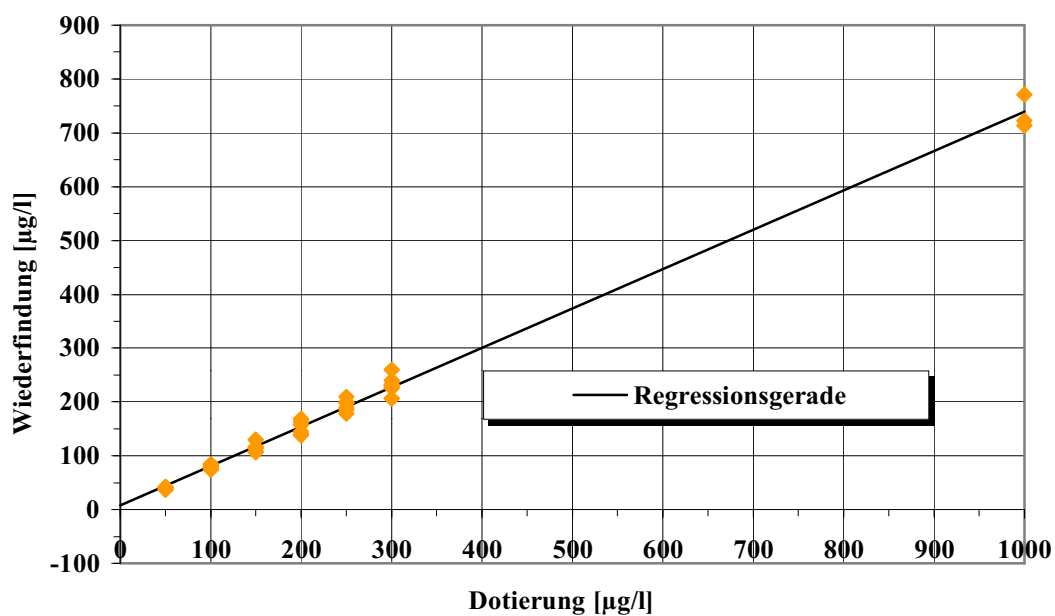


Abb. 30: Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Cadmium für verschiedene Analytkonzentrationen

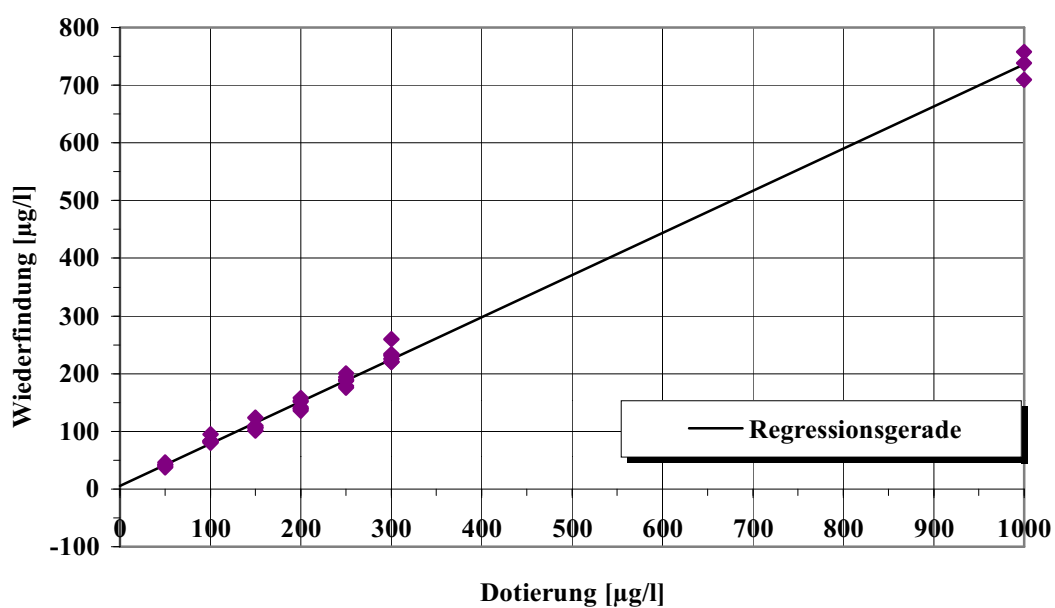


Abb. 31 Abhängigkeit der Wiederfindungsraten von Blei für verschiedene Analytkonzentrationen

In Tab. 18 sind die berechneten Koeffizienten a_1 (Steigung), a_0 (Achsenabschnitt) und die berechneten Korrelationskoeffizienten zusammengestellt.

| Analyt | Geradengleichung $y = a_1 \cdot x + a_0$ | R | Verfahrensstdabw. $s_{x_0\text{rel}} [\%]$ |
|------------------|---|-------|---|
| Cr^{3+} | $y = 0,79 \cdot x + 0,8$ | 0,999 | 7 |
| Ni^{2+} | $y = 0,75 \cdot x + 3,8$ | 0,997 | 3 |
| Cu^{2+} | $y = 0,74 \cdot x + 7,9$ | 0,997 | 2 |
| Zn^{2+} | $y = 0,74 \cdot x + 9,2$ | 0,996 | 9 |
| Cd^{2+} | $y = 0,73 \cdot x + 7,0$ | 0,997 | 8 |
| Pb^{2+} | $y = 0,73 \cdot x + 5,6$ | 0,998 | 5 |

Tab. 18: Darstellung der berechneten Koeffizienten a_1 (Steigung) und a_0 (Achsenabschnitt) und der Korrelationskoeffizienten

4.8 Praktische Systemcharakterisierung der ItaChrom EA 101

4.8.1 Auswahl des Elektrolytsystems

In der Isotachophorese haben der Leitelektrolyt (Leading) und Folgeelektrolyt (Terminating) folgende grundsätzliche Bedingungen zu erfüllen:

- Höchste Mobilität für den Leitelektrolyten, geringste Mobilität für den Folgeelektrolyten (im Vergleich zu allen beteiligten Ionen)
- Stabilität unter den gewählten experimentellen Bedingungen
- Reinheit

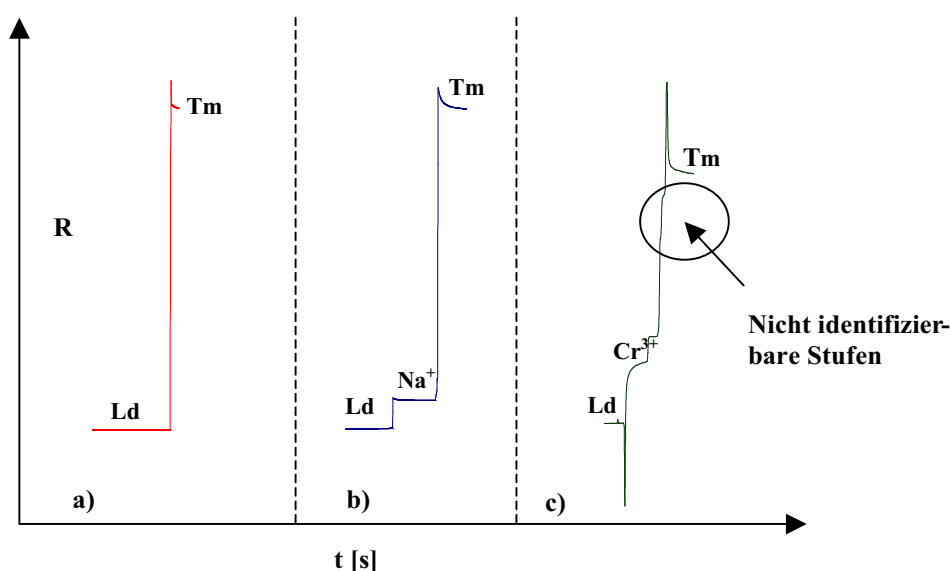


Abb. 32: Reinheit der verwendeten Elektrolyte; a) keine Verunreinigung b) Verunreinigung mit Na^+ c) Verunreinigung mit Cr^{3+} und nicht zu identifizierenden Stufen

Der Reinheit der Leit- und Folgeelektrolyten kommt eine entscheidende Bedeutung zu, da geringe Verunreinigungen im Verlauf der isotachophoretischen Trennung aufkonzentriert werden und als eigene Zonen oder Zonenverlängerungen im Isotachopherogramm auftauchen. Die Trennung der Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} ist mit Hilfe der ItaChrom EA101 mit einer 9 cm langen Vorsäule (i. D 800 μm ; FEP) und einer 19 cm langen analytischen Säule (i. D 300 μm ; FEP) durchgeführt worden. Abb. 32 verdeutlicht die recht unterschiedliche Reinheit der verwendeten Elektrolyte. Auf Grund dieser Tatsache war es notwendig, vor jeder Versuchsreihe die entsprechenden Elektrolytsysteme auf ihre Reinheit zu überprüfen, um eine gesicherte qualitative Aussage zu gewährleisten.

In der Literatur sind zur isotachophoretischen Trennung von Metallkationen vor allem Systeme beschrieben, die, um eine Trennung der verschiedenen Metallspezies zu gewährleisten, den Umweg der Komplexbildung gehen [90, 91, 92, 93, 94, 95]. Am Anfang dieser Arbeit sind zur Bestimmung der Analytionen Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} in der Literatur beschriebenen Elektrolytsysteme verwendet worden, deren Ergebnisse im folgenden beschrieben sind. Hirokawa, T., Tsukasa, M., Takemi, H. und Kiso, Y. haben für die isotachophoretische Trennung der Ionen Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} und Cd^{2+} Elektrolytsysteme verwendet, für die als Komplexbildner Oxycarbonsäuren eingesetzt worden sind [96, 97].

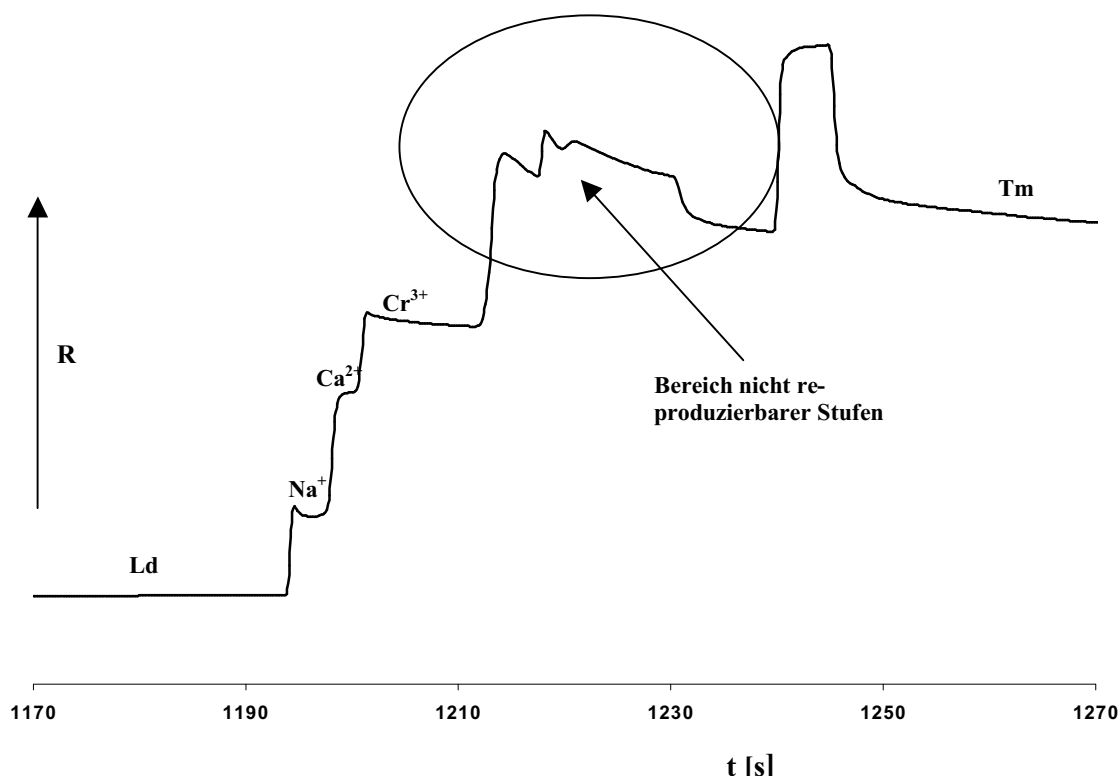


Abb. 33: Isotachopherogramm mit Hilfe des von T. Hirokawa, M. Tsukasa, H. Takemi und Y. Kiso beschriebenen Elektrolytsystems [96]

Dabei kamen Glycolat, Lactat, β -Hydroxybutyrat, α -Hydroxybutyrat und α -Hydroxyisobutyrat als Komplexligenanden bzw. Gegenionen zum Einsatz. Als Leitelektrolyt ist z. B. eine wässrige 25 mM Kaliumhydroxidlösung verwendet worden. Als Folgeelektrolyt ist 5 mM ϵ -Aminocaprinsäure verwendet worden. Die erhaltenen Isotachopherogramme sind mit einem Shimadzu IP-2a Analysengerät mit einem Shimadzu PGD-2 Leitfähigkeitsdetektor aufgezeichnet worden. Die dabei erhaltenen Ergebnisse beschreiben eine ausserordentlich gute isotachophoretische Trennung der Analyten Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} und Cd^{2+} . Allerdings ist mit diesem Elektrolytsystem keine reproduzierbare isotachophoretische Trennung mit der ItaChrom EA101 für alle Analytionen (Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+}) erreicht worden. Stellvertretend dafür verdeutlicht Abb. 33 zwar die Ausbildung isotachophoretischer Stufen, allerdings sind diese nicht reproduzierbar und den einzelnen Analyten nicht eindeutig zuzuordnen, was eine qualitative, respektive quantitative, Auswertung unmöglich macht.

In [97] wird eine Trennung der Ionen Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} mit Hilfe von Hydroxyisobuttersäure als komplexbildendes Agens beschrieben. 20 mM $\text{K}^+/\text{Na}^+ \text{OH}^-$ dient dabei als Leitelektrolyt und 5 mM Essigsäure als Folgeelektrolyt. Die Experimente sind mit Hilfe einer PTFE Trennsäule (ca. 250 * 0,2 mm i.D.) durchgeführt worden. Zur Detektion ist ein UV- bzw. Leitfähigkeitsdetektor benutzt worden. Es wird eine vollständige isotachophoretische Trennung der Ionen Ba^{2+} , Na^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} und Cu^{2+} beschrieben, die mit der ItaChrom EA101 nicht reproduziert werden konnten.

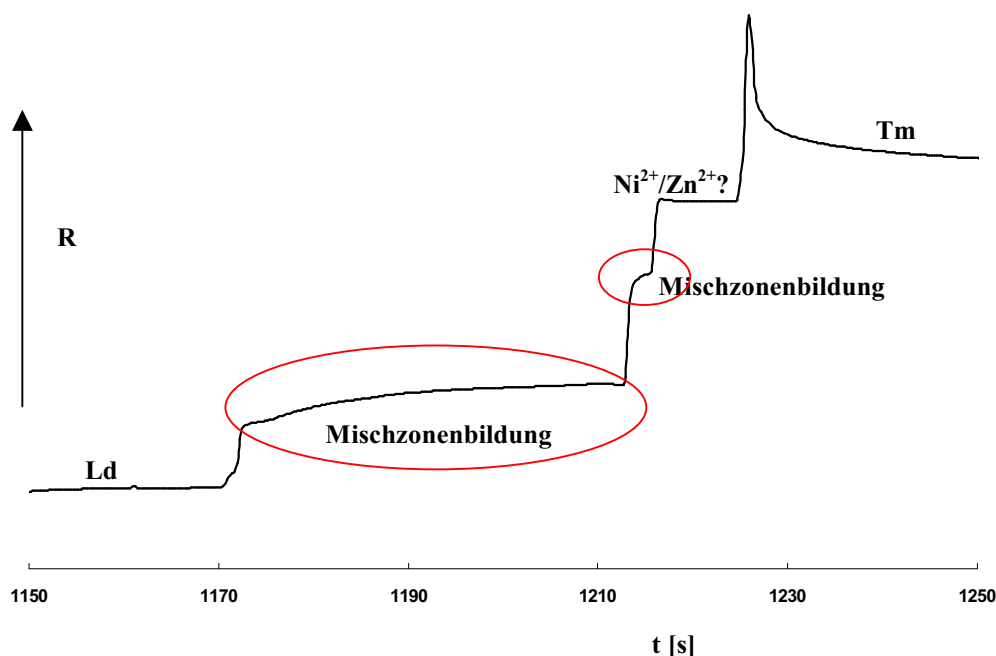


Abb. 34: Isotachopherogramm mit Hilfe des von M. Everaerts, Th. P. E. M. Verheggen, J. C. Reijenga und G. V. A. Aben beschriebenen Elektrolytsystems [97]

Es ist immer wieder, wie exemplarisch in Abb. 34 zu erkennen, zu einer Mischzonenbildung gekommen, das heißt die Mobilitätsdifferenzen der entsprechend gebildeten Metallkomplexe haben nicht für eine vollständige isotachophoretische Trennung ausgereicht. Zum anderen war es nicht möglich, getrennte Zonen für die Analyten Ni^{2+} und Zn^{2+} zu erhalten.

In [98] und [99] wird eine Trennung der Ionen Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , und Pb^{2+} mit Hilfe von Xylenolorange als chelatisierenden Co-Counter Ion beschrieben (Leading und Terminating wie in [97]).

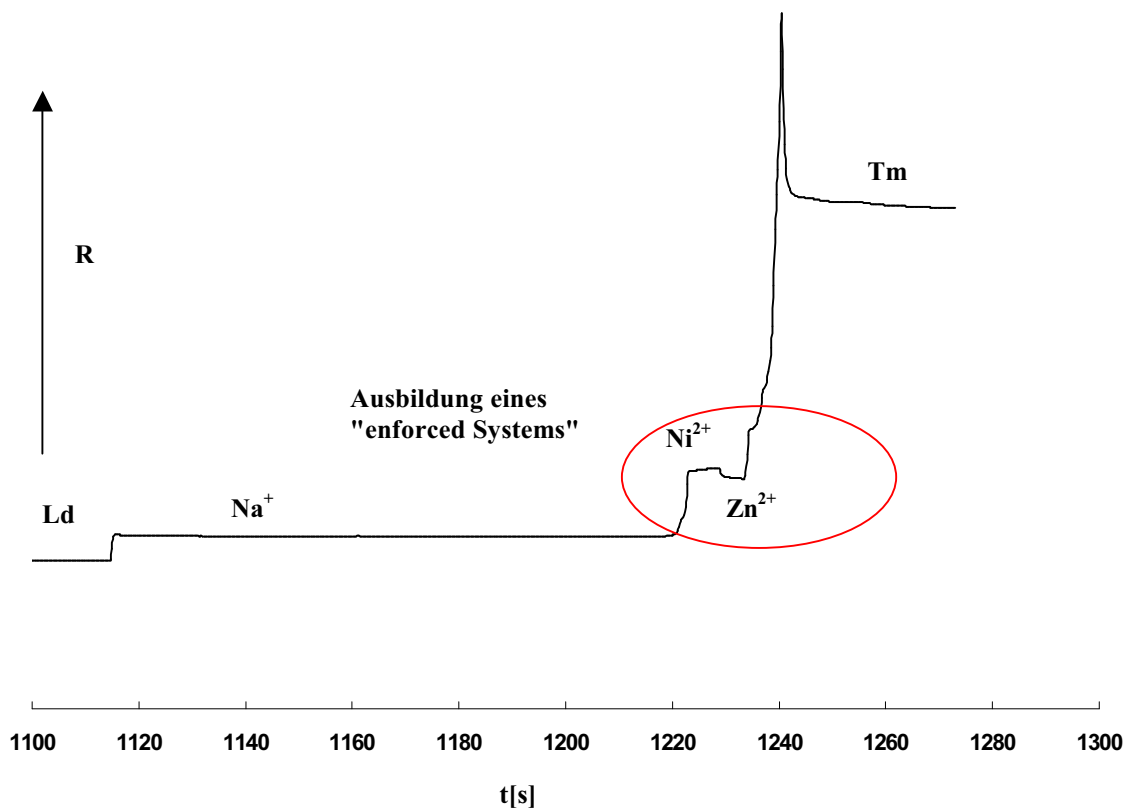


Abb. 35: Isotachopherogramm mit Hilfe des von I. Zelensky, D. Kaniansky, P. Havasi, Th. P. E. M. Verheggen und F. M. Everaerts beschriebenen Elektrolytsystems [98, 99]

In Abb. 35 ist deutlich eine Na^+ -Stufe zu erkennen, die sicherlich vom Natrium des wasserlöslichen Xylenolorange herrührt. Zu erkennen ist auch die Ausbildung eines "enforced Systems" für das System $\text{Ni}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$. Die Stufen der Analyten Cr^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} waren nicht zu erkennen.

Die mit den in der Literatur beschriebenen Elektrolytsystemen erhaltenen unbefriedigenden Ergebnisse haben dazu geführt, neue eigene Elektrolytsysteme zu entwickeln, um die Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} isotachophoretisch zu trennen und entsprechend eine quantitative Auswertung vornehmen zu können.

Mit den in Tab. 19 beschriebenen Elektrolytsystemen war es möglich, die Analyten zu trennen eindeutig zu identifizieren und eine gesicherte quantitative Aussage machen zu können.

| | Leading (Ld1a 4.2) | Terminating (Tm1 10) |
|----------|--------------------|-----------------------|
| Ionentyp | 20 mM K^+/OH^- | 10 mM β -Alanin |
| Gegenion | Glycolsäure | |
| pH-Wert | 4,5 | |
| Additiv | MHEC | |

Tab. 19: Elektrolytsystem zur Trennung der Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} ; pH-Wert des Leading 4,5 ; β -Alanin als Terminating.

In Abb. 36 ist die Trennung der Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} eindeutig zu erkennen.

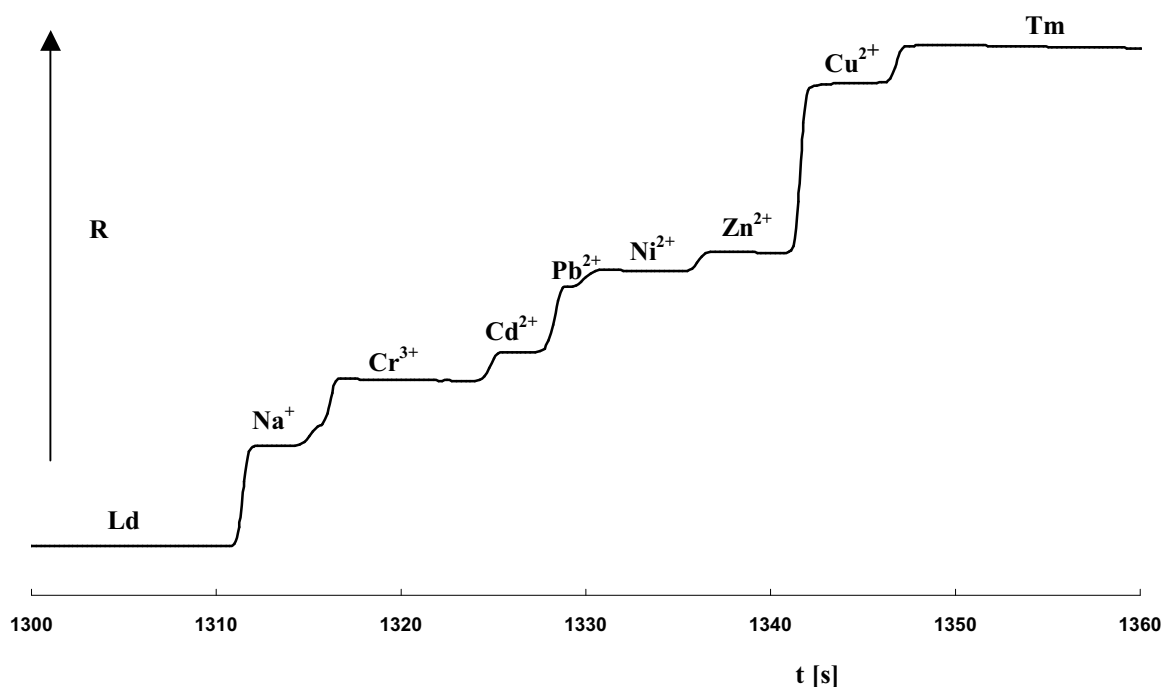


Abb. 36: Isotachopherogramm der Analyten Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} pH-Wert des Leading ist 4,5; β -Alanin als Terminating

4.8.2 Zonenlänge als Funktion des Stroms und Injektionsvolumens

Die Abbildungen 37 bis 40 und die Tab. 20 verdeutlichen die Abhängigkeit Zonenlänge (Zonenlänge als Funktion der Konzentration) von der Stromstärke bzw. des Injektionsvolumens. Dabei ist der Strom von 35 bis 70 μA und das Injektionsvolumen von 30 bis 80 μl variiert worden. Als Modellsubstanz wurde Standardlösung mit 5 mg/l für jedes Element verwendet.

In Abb. 37 erkennt man deutlich die Zunahme der Zonenlänge bei abnehmenden Stromstärken.

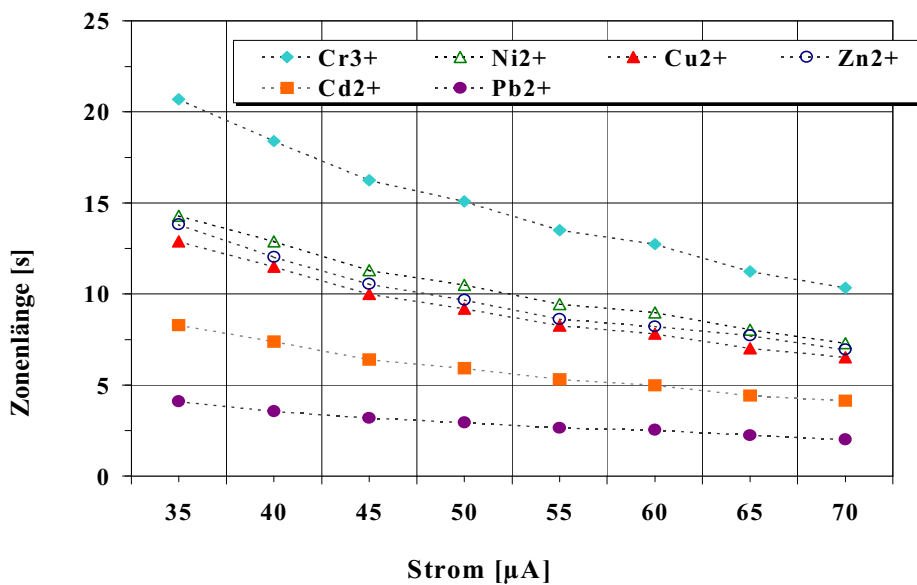


Abb. 37: Zonenlänge als Funktion des Stroms

In Abb. 38 ist die Zonenlänge als Funktion des Injektionsvolumens dargestellt.

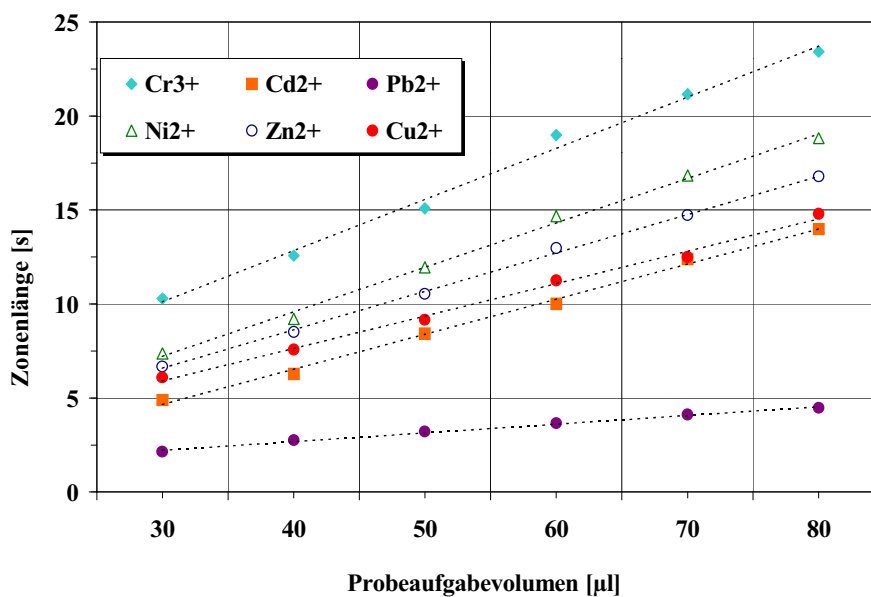


Abb. 38: Zonenlänge als Funktion des Injektionsvolumens

Trotz unsicherer manueller hydrostatischer Injektion ist für die Abhängigkeit der Zonenlänge vom Injektionsvolumen ein deutlicher linearer Zusammenhang zu erkennen (vergleiche Abb. 38). Die errechneten Korrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,996 und 0,999. Allerdings steht die Zunahme der Zonenlänge immer in Verbindung mit einer Zunahme der Analysendauer, die bei der Beurteilung der Analysenmethode berücksichtigt werden muss. Zwischen verbesserter Bestimmungsgrenze und Analysendauer ist ein Kompromiss zu finden.

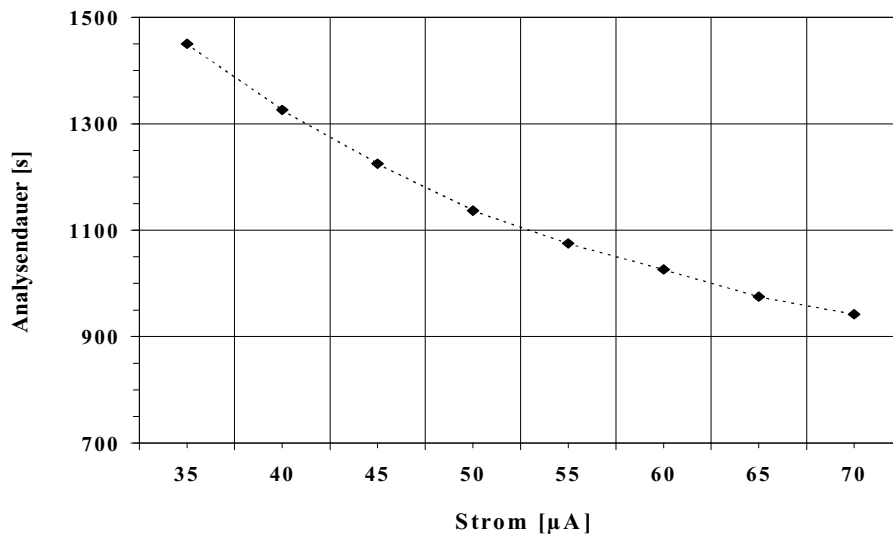


Abb. 39 Analysenzeit als Funktion des Stroms

In Abb. 40 ist die Abhängigkeit der Analysendauer vom Injektionsvolumen dargestellt.

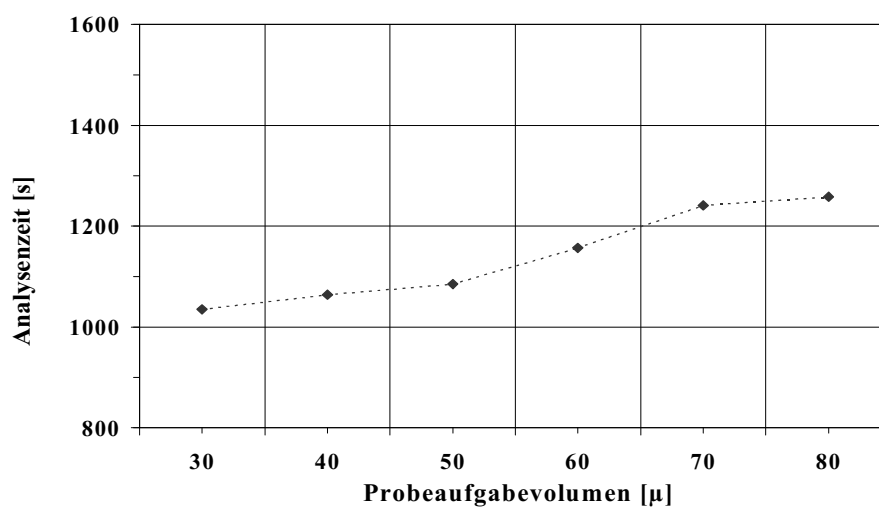


Abb. 40 Analysenzeit als Funktion des Injektionsvolumens

In Tab. 20 sind die Analysenzeiten in Abhängigkeit des Stroms und des Injektionsvolumens aufgeführt.

| Strom [μA] | Analysenzeit [s] |
|-------------------------|------------------|
| | Mittelwert [s] |
| 35 | 1450 ± 15 |
| 40 | 1332 ± 18 |
| 45 | 1141 ± 3 |
| 50 | 1073 ± 6 |
| 55 | 1030 ± 3 |
| 60 | 977 ± 2 |
| 70 | 946 ± 3 |

| Injektionsvolumen [μl] | Analysenzeit [s] |
|-------------------------------------|------------------|
| | Mittelwert [s] |
| 30 | 1035 ± 5 |
| 40 | 1064 ± 4 |
| 50 | 1085 ± 4 |
| 60 | 1157 ± 7 |
| 70 | 1241 ± 4 |
| 80 | 1258 ± 6 |

Tab. 20: Analysenzeit als Funktion des Stroms und des Injektionsvolumens

4.8.3 Optimierung des Elektrolytsystems

Wie schon in Abschnitt 3.2.6 erwähnt, stellt die Variation des pH-Wertes eine einfache Möglichkeit dar, eine elektrophoretische Trennung zu optimieren. Der Dissoziationsgrad wird unter anderem über den pH-Wert bestimmt und dadurch die effektiven Mobilitäten der Analyten (vergleiche Abschnitt 3.2.1) beeinflusst. Aufgrund dieser Tatsache ist die Trennung und Bestimmung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei aus einer standardisierten Probelösung mit Hilfe des in Tab. 19 beschriebenen Elektrolytsystems durchgeführt worden. Dabei wurde der pH-Wert des Leitelektrolyten mit Hilfe von Glycolsäure zwischen 3,5 bis 5,0 variiert.

Die Versuchsbedingungen waren: 30 μl Injektionsvolumen; Konzentration pro Analyt = 3 mg/l und die Stromstärken waren für Säule 1 (9 cm Länge; 800 μm i.D. FEP) 200 μA und für Säule 2 (19 cm Länge; 300 μm i.D. FEP) 60 μA .

Die erhaltenen relativen Stufenhöhen (RSH) zur Identifizierung und die Stufenlängen in Sekunden zur Quantifizierung (vergleiche Abschnitt 3.2.11) sind in Tab. 21 und Tab. 22 aufgeführt.

| Stufenhöhen (RSH) Mittelwert aus $n = 3$ | pH 5,0 | | pH 4,2 | | pH 4,0 | | pH 3,5 | |
|---|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|
| | | RSD [%] | | RSD [%] | | RSD [%] | | RSD [%] |
| Cr^{3+} | 0,395 | 9,1 | 0,354 | 1,5 | 0,321 | 2,5 | 0,351 | 1,6 |
| Ni^{2+} | 0,628 | 0,8 | 0,575 | 0,9 | 0,569 | 1,2 | 0,602 | 1,0 |
| Cu^{2+} | 0,909 | 0,5 | 0,913 | 0,5 | 0,933 | 0,9 | 0,978 | 1,7 |
| Zn^{2+} | 0,560 | 1,8 | 0,593 | 0,7 | 0,592 | 1,1 | 0,618 | 0,8 |
| Cd^{2+} | 0,382 | 3,6 | 0,395 | 2,0 | 0,375 | 1,6 | 0,399 | 0,8 |
| Pb^{2+} | 0,520 | 1,4 | 0,529 | 0,6 | 0,456 | 1,6 | 0,463 | 1,6 |

Tab. 21: Abhängigkeit der relativen Stufenhöhe (RSH) vom pH-Wert des Elektrolytsystems

| Zonenlänge [s] Mittelwert aus n = 3 | pH 5,0 | | pH 4,2 | | pH 4,0 | | pH 3,5 | |
|--|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|
| | | RSD [%] | | RSD [%] | | RSD [%] | | RSD [%] |
| Cr^{3+} | 2,7 | 1,3 | 13,5 | 0,8 | 14,0 | 0,4 | 13,8 | 0,8 |
| Ni^{2+} | 8,8 | 1,4 | 9,0 | 0,6 | 9,1 | 0,9 | 9,2 | 0,6 |
| Cu^{2+} | 2,9 | 11,6 | 7,7 | 0,7 | 4,4 | 4,1 | 3,5 | 2,2 |
| Zn^{2+} | 8,3 | 0,7 | 8,8 | 0,9 | 8,9 | 1,4 | 8,8 | 0,3 |
| Cd^{2+} | 8,5 | 3,3 | 5,0 | 1,5 | 5,2 | 1,1 | 5,0 | 1,0 |
| Pb^{2+} | 2,7 | 1,9 | 2,7 | 1,4 | 2,7 | 1,1 | 2,7 | 1,1 |

Tab. 22: Abhängigkeit der Zonenlänge vom pH-Wert des Elektrolytsystems

In Abb. 41 ist die Trennung bei verschiedenen pH-Werten des Elektrolytsystems dargestellt.

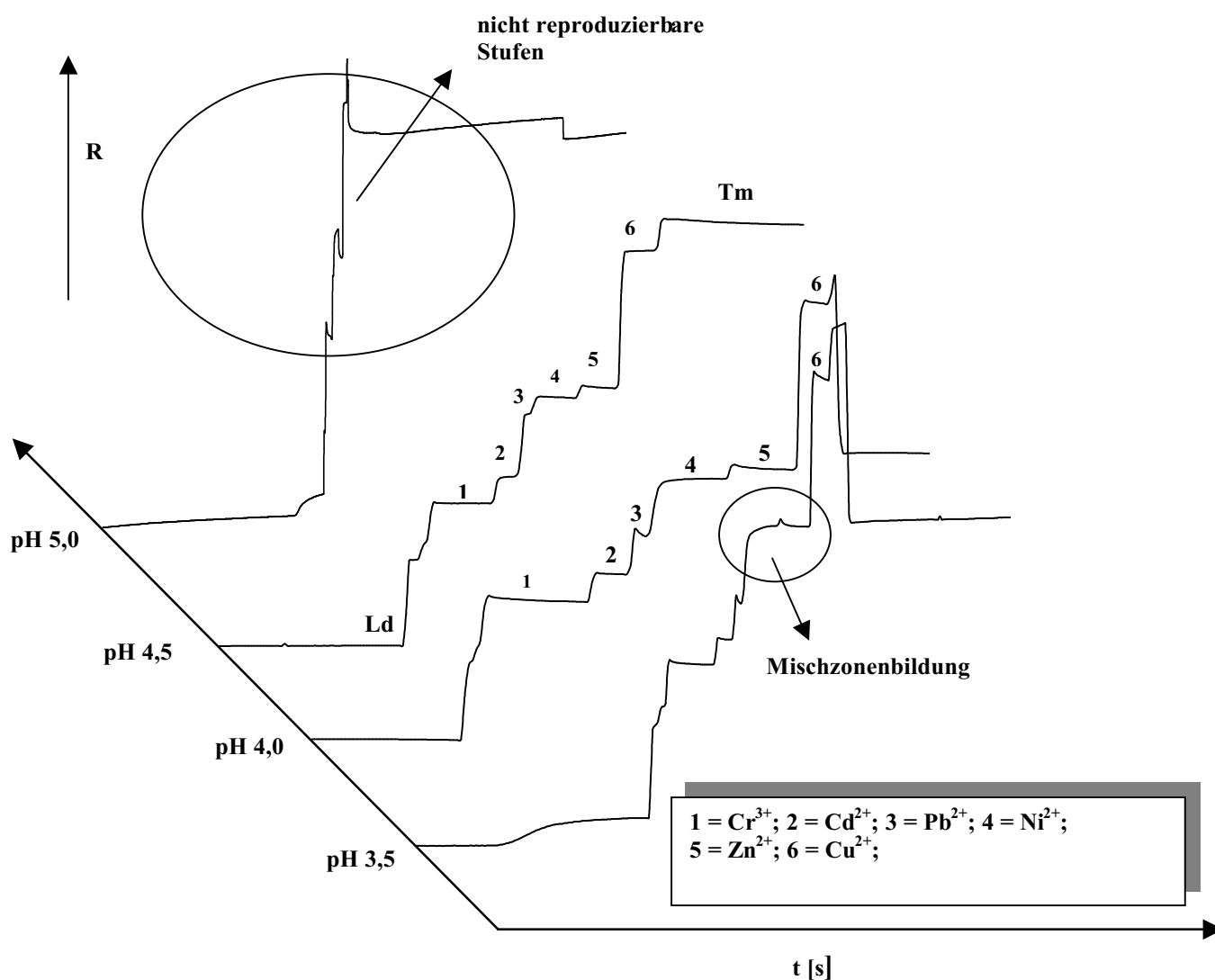


Abb. 41: Isotachophoretische Trennung bei verschiedenen pH-Werten

In Abb. 41 erkennt man den Einfluss des pH-Wertes des Elektrolytsystems. Die besten Ergebnisse wurden bei pH 4,5 erhalten. Bei einem pH-Wert 5,0 zeigen sich nichtreproduzierbare Stufen. Bei einem pH-Wert von 3,5 ist es zu einer partiellen Mischzonenbildung gekommen, das heißt die Mobilitätsdifferenzen der gebildeten Metallkomplexe haben nicht für eine vollständige isotachophoretische Trennung der Analyten Ni^{2+} und Zn^{2+} ausgereicht. Variiert der pH-Wert des Elektrolytsystems zwischen 4,0 und 4,5 ist eine Identifizierung und Quantifizierung aller Analyten möglich, wobei bei einem pH-Wert von 4,5 deutlich bessere Stufen zur Identifizierung erhalten wurden.

4.8.4 Ohm-Plot

Die Ausbildung des Temperaturgradienten bei einer isotachophoretischen Trennung hängt stark von den Kapillardimensionen, dem elektrischen Feld und der Leitfähigkeit des Puffersystems ab. Die gesamte erzeugte Joulesche Wärme wird in der Regel über die Kapillärwand abgeführt. Sollte dies nicht der Fall sein, steigt die Temperatur des Elektrolyten an, sein Widerstand sinkt bzw. seine Leitfähigkeit nimmt zu und der Strom nimmt überproportional mit der angelegten Spannung zu. Dies hat eine Deformation der Zonen zur Folge. Der lineare Gültigkeitsbereich des Ohmschen Gesetzes ist dann nicht mehr gegeben. Der Ohm-Plot wurde mit Hilfe des in Tab. 19 (b) beschriebenen Elektrolytsystems aufgenommen.

| Strom [μA] | Spannung [V] | | | | |
|-------------------------|--------------|--------|--------|----------------|---------------|
| | Lauf 1 | Lauf 2 | Lauf 3 | Mittelwert [V] | rel. Std. [%] |
| 30 | 564 | 564 | 571 | 566 | 0,55 |
| 35 | 652 | 659 | 652 | 654 | 0,50 |
| 40 | 739 | 732 | 746 | 739 | 0,77 |
| 45 | 820 | 820 | 827 | 822 | 0,40 |
| 50 | 908 | 908 | 901 | 906 | 0,36 |
| 55 | 981 | 974 | 989 | 981 | 0,62 |
| 60 | 1062 | 1062 | 1069 | 1064 | 0,31 |
| 65 | 1146 | 1142 | 1149 | 1142 | 0,80 |
| 70 | 1230 | 1230 | 1237 | 1232 | 0,27 |

Tab. 23: Ohm-Plot; Strom - Spannungsverlauf

Der Ohm-Plot zeigt mit einem, aus den Daten für den Strom und den Mittelwerten der Spannung (vergleiche Tab. 23), berechneten Korrelationskoeffizienten von 0,999 keine Abweichung vom Ohmschen Gesetz. Temperaturstörungen können somit im Bereich von 564 - 1237 V Trennspannung vernachlässigt werden, wenn mit dem in Tab. 19 beschriebenen Elektrolytsystem gearbeitet wird. Der Grund für die geringe Wärmeentwicklung liegt in den geringen Äquivalentleitfähigkeiten des gesamten Elektrolytsystems vor allem der des Terminating (β -Alanin) selbst. Da die ITP mit zwei Elektrolytsystemen (Leadingsystem und Terminatingsystem) arbeitet, bleibt die Stromstärke bzw. Spannung nicht konstant. Üblicherweise wird die Stromstärke als konstante Größe eingestellt. Die Spannung steigt dementsprechend mit der Zeit und mit dem stetigen Nachfolgen des schlechter leitenden Terminating.

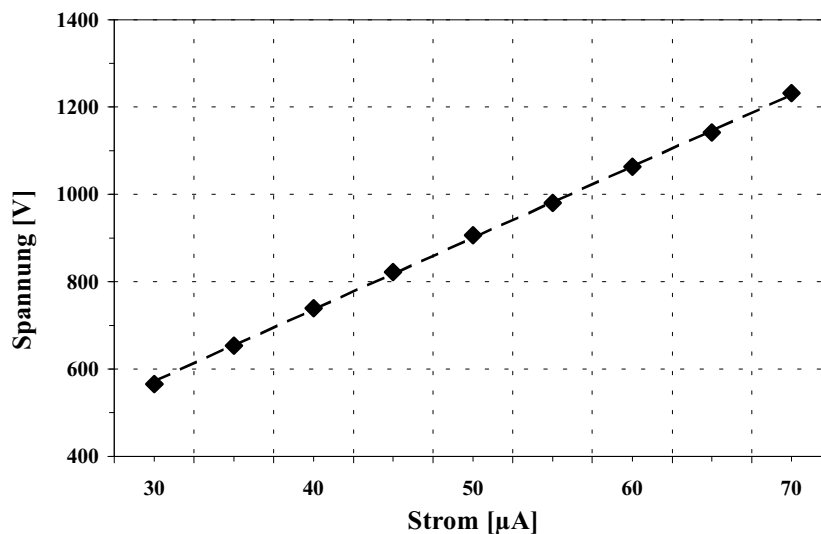


Abb. 42: Ohm-Plot; Strom – Spannungsverlauf

4.8.5 Kalibrierfunktionen

Kalibriert wurde mit Einzelstandards der Fa. Merck für Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} . Der Arbeitsbereich wurde zwischen 0,5 bis 10 mg/l gewählt und ist demnach den nach Anreicherung am Austauschsystem zu erwartenden Analytkonzentrationen angepasst worden. Das für die isotachophoretische Trennung in Abschnitt 4.8.1 ausgewählte und optimierte Elektrolytsystem wird in folgender Tabelle mit den isotachophoretischen Arbeitsbedingungen dargestellt.

| | |
|---------------------------------|--|
| Kapillaren | 9 cm 800 µm i.D. FEP ; 19 cm 300 µm i.D. FEP |
| Leitelektrolyt; Folgeelektrolyt | 20 mM KOH, Glycolsäure, pH = 4,5; MHEC; 10 mM β-Alanin |
| Injektion | 30 µl; Injektionsventil |
| Stromstärke I | Säule 1 I = 200 µA; Säule 2 I = 60 µA |

Tab. 24: Elektrolytsystem und Arbeitsbedingungen für die Kalibrierung

In Tab. 25 werden die erhaltenen Kalibrierdaten dargestellt (Mittelwert \bar{x} = n aus 5; RSD in %).

| Mittelwert | Cr^{3+} | | Ni^{2+} | | Cu^{2+} | | Zn^{2+} | | Cd^{2+} | | Pb^{2+} | |
|------------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|---------|
| c [mg/l] | \bar{x} | RSD [%] | \bar{x} | RSD [%] | \bar{x} | RSD [%] | \bar{x} | RSD [%] | \bar{x} | RSD [%] | \bar{x} | RSD [%] |
| 0,5 | 2,4 | 2,3 | 1,6 | 1,5 | 1,3 | 1,9 | 1,6 | 3,7 | 1,1 | 3,3 | 0,3 | 43,5 |
| 1,0 | 4,2 | 1,8 | 3,1 | 0,8 | 2,5 | 1,0 | 2,8 | 1,2 | 2,1 | 2,5 | 0,8 | 4,9 |
| 1,5 | 6,4 | 1,1 | 4,6 | 1,4 | 3,9 | 1,0 | 4,2 | 1,9 | 2,9 | 1,7 | 1,2 | 3,2 |
| 2,0 | 8,4 | 0,7 | 6,1 | 1,10 | 5,2 | 1,2 | 5,5 | 0,7 | 3,6 | 1,9 | 1,6 | 1,6 |
| 2,5 | 10,7 | 0,9 | 7,6 | 1,0 | 6,3 | 1,5 | 6,7 | 0,8 | 4,4 | 0,6 | 2,0 | 3,1 |
| 3,0 | 12,5 | 0,3 | 9,1 | 1,3 | 7,9 | 0,3 | 8,1 | 0,8 | 5,3 | 1,0 | 2,4 | 1,0 |
| 5,0 | 20,3 | 1,0 | 15,2 | 0,9 | 13,0 | 1,7 | 13,7 | 0,4 | 8,4 | 0,5 | 4,0 | 0,9 |
| 10,0 | 42,4 | 1,3 | 30,3 | 0,9 | 16,0 | 0,7 | 27,0 | 0,2 | 16,1 | 0,7 | 7,9 | 0,9 |

Tab. 25: Kalibrierdaten

In Abb. 43 sind die berechneten Kalibrierfunktionen dargestellt.

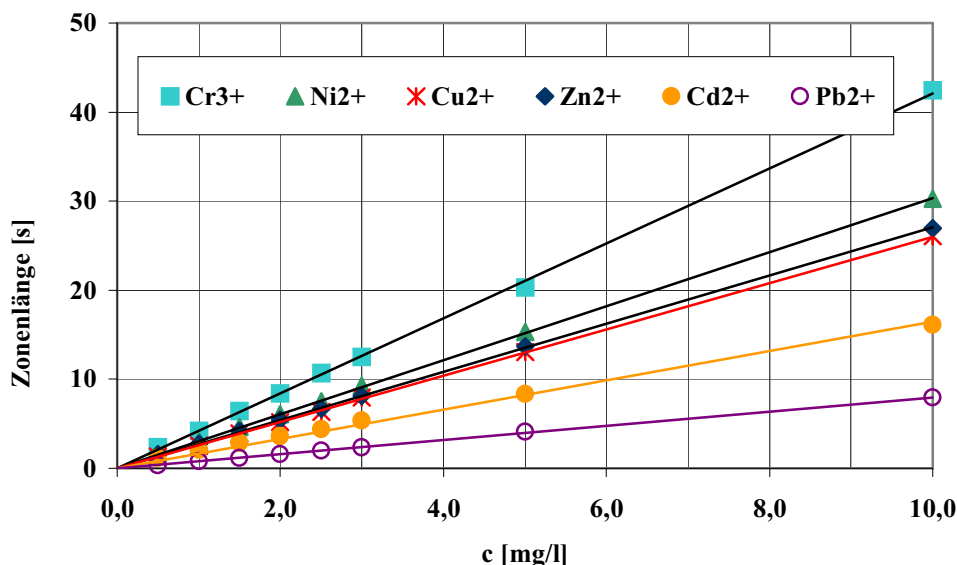


Abb. 43: Kalibrierfunktionen für Cr^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+}

In der Isotachophorese können die Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze nicht aus der Streuung der Informationswerte y_i einer Blindprobe erfolgen [74], da die Isotachophorese mit einem diskontinuierlichen System arbeitet. Deswegen ist die kleinste unterscheidbare Konzentration für alle Analyten mit einer Zonenlänge von 1 Sekunde festgelegt worden und aus den Kalibrierfunktionen berechnet worden. Die sich aus den Kalibrierdaten ergebenden Kalibrierfunktionen und berechneten kleinsten unterscheidbaren Konzentrationen sind in Tab. 26 zusammengefasst.

| Analyt | Kalibrierfunktion $y = a_1 \cdot x + a_0$ | R | s_y [s] | kleinste unterscheidbare Konzentration [mg/l] |
|------------------|--|-------|-----------|--|
| Cr^{3+} | $y = 0,24 \cdot x + 0,01$ | 0,999 | 0,10 | 0,25 |
| Ni^{2+} | $y = 0,33 \cdot x - 0,02$ | 0,999 | 0,09 | 0,31 |
| Cu^{2+} | $y = 0,38 \cdot x + 0,02$ | 0,999 | 0,09 | 0,40 |
| Zn^{2+} | $y = 0,37 \cdot x - 0,05$ | 0,999 | 0,11 | 0,32 |
| Cd^{2+} | $y = 0,64 \cdot x - 0,31$ | 0,999 | 0,09 | 0,33 |
| Pb^{2+} | $y = 1,25 \cdot x + 0,04$ | 0,999 | 0,05 | 1,29 |

Tab. 26: Erhaltene Kalibrierfunktionen

4.8.6 Selektivität

Ein Analysenverfahren ist dann selektiv, wenn verschiedene nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung erfasst und bestimmt werden können. Eine Aussage zur Selektivität kann durch ein Testgemisch oder eine realen Probe mit einer definierten Auswahl an Komponenten gemacht werden. Zu diesem Zweck wurde ein Testgemisch mit 10 Kationen ($c = 1 \text{ mg/l}$ pro Komponente) dotiert, die am Aus-tauschersystem angereichert und mit 25 ml HCl eluiert worden sind. Nachfolgend sind die 10 Kationen mit

Hilfe des Elektrolytsystems isotachophoretisch analysiert worden. Die Auswahl der Analytionen wurde bewusst so gewählt, dass sie die zu überwachenden Kationen Cr, Ni, Cu, Zn, Cd und Pb und die häufig im Abwasser vorkommenden Alkali- und Erdalkalitionen einschließt. Selektivität ist dann gegeben, wenn sich der Selektivitätskoeffizient r_{AB} (vergleiche Abschnitt 3.2.4, Gl. 20), betrachtet man zwei unterschiedliche Ionen, vom Zahlenwert 1 unterscheidet. Wegen der unterschiedlichen Mobilitäten ist ein isotachophoretisches System durch seine scharfen Zonengrenzflächen gekennzeichnet. Aufgrund der errechneten Mobilitäten (siehe Tab. 8) der freien Metall-Kationen und daraus berechneten Selektivitätskoeffizient r_{AB} (vergleiche Abschnitt 3.2.4) erkennt man, dass eine Trennung der freien Metall-Kationen aufgrund ihrer Mobilitäten nicht möglich ist. Über den Umweg der Komplexbildung ist aber eine Trennung der Metalle dennoch möglich, wenn sich die für die erhaltenen Spezies die Mobilitäten unterscheiden (vergleiche Abschnitt 3.2.5). Reicht die Mobilitätsdifferenz der gebildeten Spezies nicht für eine vollständige isotachophoretische Trennung aus, kann es an den Zonengrenzflächen zu Mischzonenbildung kommen. Wegen diesem Sachverhalt ist die Selektivität der Trennung, betrachtet man sich Abb. 44, nicht ganz offensichtlich. Scharfe Zonengrenzflächen (durch optimale Stufen ausgezeichnet) sind im abgebildeten Isotachopherogramm, aufgrund von Mischzonenbildung in den Zonengrenzflächen, nicht überall zu erkennen. Allerdings reicht die gegebene Selektivität der Trennung aus, um die einzelnen Spezies eindeutig den im Isotachopherogramm erhaltenen Stufen zuordnen zu können.

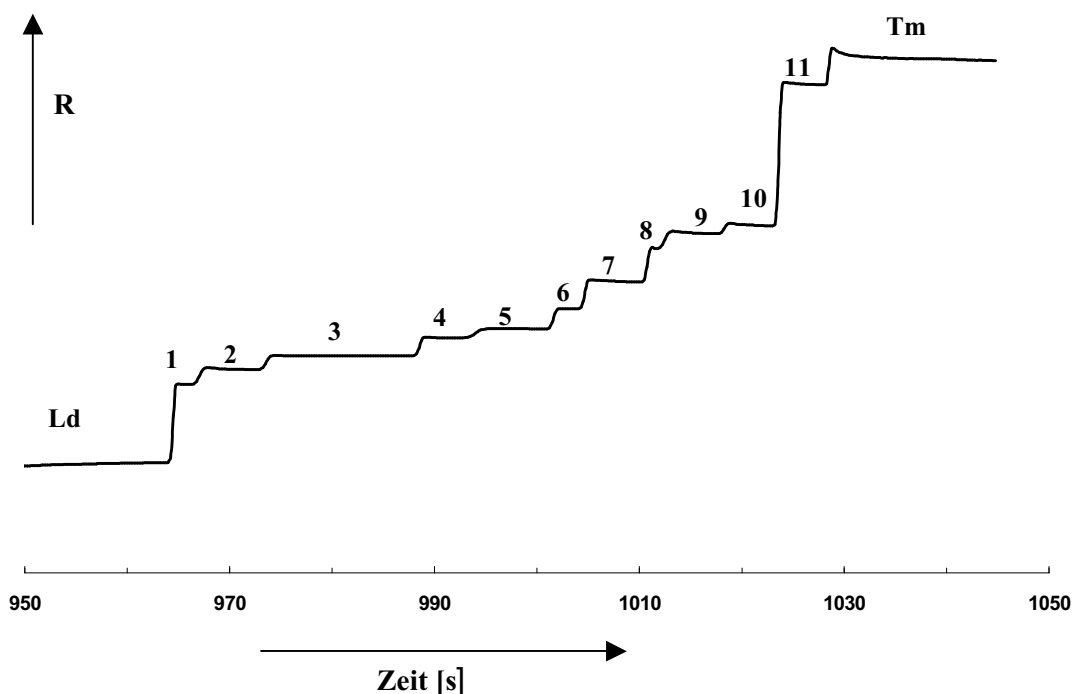


Abb. 44: Isotachopherogramm der dotierten Kationen; 1 = Na^+ ; 2 = Ca^{2+} ; 3 = Mg^{2+} ; 4 = Mn^{2+} ; 5 = Cr^{3+} ; 6 = Cd^{2+} ; 7 = Co^{2+} ; 8 = Pb^{2+} ; 9 = Ni^{2+} ; 10 = Zn^{2+} ; 11 = Cu^{2+}

In Tab. 27 sind die Arbeitsbedingungen dargestellt, die zur Aufnahme des Isotachopherogramms in Abb. 44 führten.

| | |
|-----------------|--|
| Kapillaren | 9 cm 800 μm i.D. FEP ; 19 cm 300 μm i.D. FEP |
| Leitelektrolyt | 20 mM KOH, Glycolsäure, pH = 4.2, 1 % MHEC |
| Folgeelektrolyt | 10 mM β -Alanin |
| Injektion | 30 μl ; Injektionsventil |
| Stromstärke | I1: 200 μA ; I2: 60 μA |

Tab. 27: Arbeitsbedingungen zur Aufnahme des Isotachopherogramms in Abb. 44

4.8.7 Richtigkeit

Als Richtigkeit wird das Maß der Abweichung des Messwertes vom „richtigen“ Wert beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Richtigkeit durch die Wiederfindung für die Analyten mit bekannter Konzentration in dotierten wässrigen Modelllösungen unter Verwendung einer Kalibrierfunktion ermittelt.

Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten über den gesamten Zeitraum (Februar 98 bis Juli 98) wurde diese 1-be Kalibriergerade verwendet. Demnach hängt in der Isotachophorese die Zonenlänge reproduzierbar von der Konzentration der Analyten (wenn die Konzentration des Leitelektrolyten, die Stromstärke, der Kapillardurchmesser und das Injektionsvolumen als konstant betrachtet werden können) ab und die quantitative Auswertung über eine Kalibrierfunktion sollte über einen längeren Zeitraum möglich sein.

In Tab. 28 und Abb. 45 ist die Wiederfindung der Analyten aus Modelllösungen als Maß der Richtigkeit dargestellt.

| Messdatum | 21.02.98 | 19.03.98 | 24.04.98 | 28.05.98 | 31.05.98 | 26.06.98 | 27.06.98 |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Wiederfindung: Mittelwert [%] aus n = 3 Messungen eine Probe | | | | | | | |
| Cr^{3+} | 95 | 100 | 100 | 99 | 103 | 97 | 95 |
| RSD [%] | 2 | 6 | 1 | 5 | 5 | 4 | 5 |
| Ni^{2+} | 100 | 100 | 98 | 100 | 97 | 96 | 104 |
| RSD [%] | 1 | 4 | 1 | 7 | 5 | 2 | 3 |
| Cu^{2+} | 98 | 100 | 99 | 100 | 96 | 94 | 96 |
| RSD [%] | 1 | 2 | 1 | 1 | 3 | 2 | 3 |
| Zn^{2+} | 101 | 103 | 102 | 102 | 97 | 95 | 100 |
| RSD [%] | 2 | 5 | 2 | 4 | 1 | 8 | 1 |
| Cd^{2+} | 97 | 101 | 97 | 100 | 100 | 101 | 99 |
| RSD [%] | 1 | 1 | 4 | 6 | 4 | 1 | 3 |
| Pb^{2+} | 103 | 100 | 103 | 98 | 98 | 101 | 103 |
| RSD [%] | 1 | 3 | 6 | 5 | 2 | 5 | 4 |

Tab. 28: Wiederfindung (der Analyten aus wässrigen Modelllösungen) als Maß für die Richtigkeit

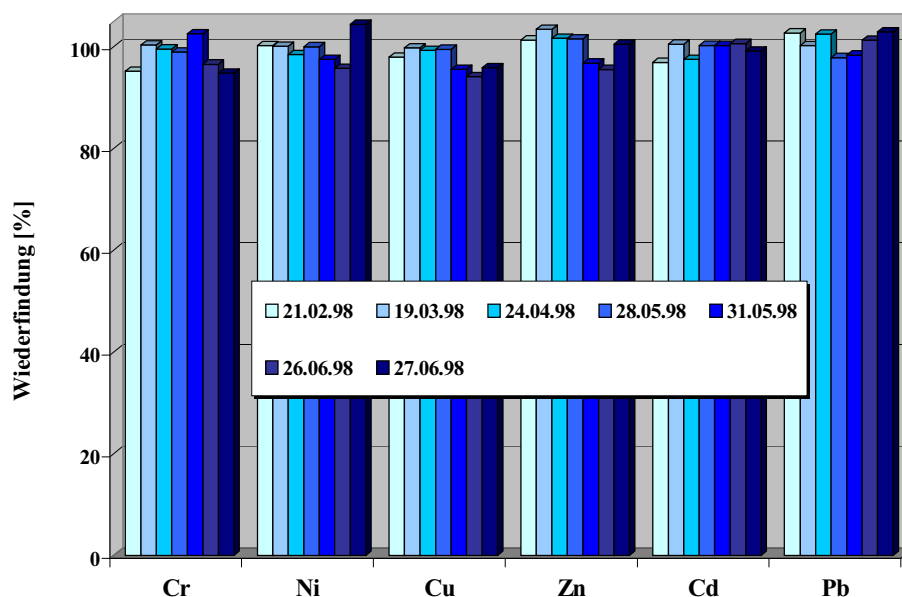


Abb. 45: Wiederfindung als Maß der Richtigkeit

4.8.8 Reproduzierbarkeit

Die Streuung der Analysenwerte für einen Analyten wird durch die Reproduzierbarkeit ausgedrückt. Die Streuung der Messergebnisse beruht meistens auf zufälligen Fehlern. In den Tabellen 29 und 30 werden Messungen der Reproduzierbarkeit (ein Labor, ein Gerät, ein Bediener) für die Konzentration als Funktion der Zonenlänge und die Identifizierung anhand der relativen Stufenhöhen (RSH) bei 6 Messungen des Testgemisches (vergleiche Abschnitt 4.8.6) dargestellt.

| | Zonenlänge [s] | | | | | |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Cr ³⁺ | Ni ²⁺ | Cu ²⁺ | Zn ²⁺ | Cd ²⁺ | Pb ²⁺ |
| Lauf 1 | 8,65 | 6,15 | 5,25 | 5,50 | 3,60 | 1,55 |
| Lauf 2 | 8,50 | 6,00 | 5,10 | 5,50 | 3,55 | 1,55 |
| Lauf 3 | 8,40 | 5,95 | 5,10 | 5,45 | 3,55 | 1,60 |
| Lauf 4 | 8,50 | 6,05 | 5,20 | 5,50 | 3,65 | 1,60 |
| Lauf 5 | 8,40 | 6,05 | 5,15 | 5,45 | 3,65 | 1,60 |
| Lauf 6 | 8,35 | 5,95 | 5,10 | 5,40 | 3,70 | 1,60 |
| Mittelwert [s] | 8,50 | 6,00 | 5,15 | 5,50 | 3,60 | 1,60 |
| RSD [%] | 1,28 | 1,26 | 1,23 | 0,75 | 1,67 | 1,63 |

Tab. 29: Wiederholpräzision der Konzentration als Funktion der Zonenlänge

Die relativen Standardabweichungen für die Reproduzierbarkeit der Quantifizierung liegen zwischen 0,75 und 1,67 %.

Für die Reproduzierbarkeit der relativen Stufenhöhen lagen die relativen Standardabweichungen zwischen 0,4 und 0,7 %.

| | relative Stufenhöhen | | | | | |
|-------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Cr ³⁺ | Ni ²⁺ | Cu ²⁺ | Zn ²⁺ | Cd ²⁺ | Pb ²⁺ |
| Lauf 1 | 0,342 | 0,557 | 0,925 | 0,592 | 0,396 | 0,526 |
| Lauf 2 | 0,341 | 0,555 | 0,918 | 0,590 | 0,394 | 0,522 |
| Lauf 3 | 0,342 | 0,560 | 0,916 | 0,592 | 0,396 | 0,523 |
| Lauf 4 | 0,340 | 0,559 | 0,910 | 0,589 | 0,394 | 0,520 |
| Lauf 5 | 0,339 | 0,561 | 0,909 | 0,589 | 0,393 | 0,520 |
| Lauf 6 | 0,339 | 0,565 | 0,910 | 0,592 | 0,393 | 0,521 |
| Mittelwert | 0,341 | 0,560 | 0,915 | 0,591 | 0,394 | 0,522 |
| RSD [%] | 0,405 | 0,617 | 0,683 | 0,255 | 0,346 | 0,437 |

Tab. 30: Reproduzierbarkeit der relativen Stufenhöhen RSH

Die Akzeptanzgrenzen für die Reproduzierbarkeit sind nicht festgelegt, sondern hängen von der speziellen Fragestellung ab. Wird beispielsweise im Pharmabereich in der Regel eine relative Standardabweichung (RSD) von < 2 % verlangt, so sind in der Umweltanalytik relative Standardabweichungen von bis zu 5 % durchaus akzeptabel.

4.9 Methodenvergleich der Analysenverfahren ITP und ICP-OES

Soll ein neues Analysenverfahren auf seinen praktischen Einsatz in der Wasseranalytik hin überprüft werden, so muss es an den gesamten möglichen Anwendungsbereich umfassenden realen Proben getestet werden.

Beim Methodenvergleich der Analysenverfahren in der Routine wurden für mindestens $N = 30$ Probenlösungen eine Bestimmung mit sowohl Referenzverfahren als auch Alternativverfahren durchgeführt.

Mit Hilfe von Gl. 39 ist die Steigung a_1 und mit Gl. 40 der Achsenabschnitt a_0 der resultierenden Regressionsgeraden berechnet worden. Mit Hilfe des nachfolgenden *Differenzen-t*-Test wurde entschieden, ob sich die beiden Verfahren bei der Bestimmung des entsprechenden Analyten signifikant unterscheiden haben.

Dazu wurde nach Gl. 59 die Prüfgröße PG_t ermittelt und mit $t_{P,t}$ -Tabellenwerten [69] für $f = N - 1$ und $P = 99\%$ verglichen. Dabei ist zu beachten, dass der *Differenzen-t*-Test keine Aussage darüber zulässt, welches Verfahren vom wahren Wert mehr abweicht.

Beim Verfahren nach Bablok-Passing sind die Steigung β , deren Vertrauensbereich (mit β_u untere Grenze und β_o obere Grenze), der Achsenabschnitt α und dessen Vertrauensbereich (mit α_u untere Grenze und α_o obere Grenze) mit Hilfe des Programms WIN-COMPARE (Fa. Merck KGaA) errechnet worden.

- **Versuchsbeschreibung:**

Die verwendeten realen Proben sind in Tab. 31 zusammengestellt.

| Entnahmestelle | Bezeichnung | Probenart |
|-----------------|---|--------------------------|
| Zulauf ZABA T55 | R_16.2.98 (Februar 98), R_17.2.98 (Februar 98) R_18.2.98 (Februar 98), R_19.2.98 (Februar 98) R_26.5.98 (Mai 98), R_26.6.98 (Juni 98) R_18.7.98 (Juli 98), R_25.7.98 (Juli 98) | 24 h und 2 h Mischproben |

Tab. 31: Verwendete Proben für den Methodenvergleich und deren Entnahmestelle

Die Probenahme erfolgte automatisch und durchflussproportional im Zeitraum von Februar 98 bis Juli 98. Jeweils 100 ml der Proben wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen der einzelnen zu bestimmenden Elemente (Einzelstandards, Fa. Merck KGaA) dotiert. Die Messwerte der Einzelbestimmungen sind jeweils mit dem (vor der Dotierung) nach DIN 38406 bestimmten Blindwert korrigiert worden. Als Austauschersystem wurde das ausgewählte Schichtbettaustauschersystem eingesetzt (vergleiche Abschnitt 4.5).

Die Wiederfindung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei wurde nach Anreicherung und Elution mit 25 ml 2 M HCl am Austauschersystem mittels ICO-OES und ITP bestimmt. Bei der Anreicherung und Elution wurde die Durchflussgeschwindigkeit am Austauschersystem mit 15 ml/min eingestellt.

Die Bestimmung der Wiederfindung mittels ITP (ItaChrom EA 101) wurde mit den in Tab. 24 zusammengestellten Arbeitsbedingungen durchgeführt. Zur Konzentrationsermittlung sind die nach Abschnitt 4.8.5 ermittelten Kalibrierfunktionen zugrunde gelegt worden.

Aufgrund von zeitweiligen technischen Schwierigkeiten (vergleiche Abschnitt 4.1) durch Ablagerungen an den Kontakten des Leitfähigkeitsdetektors in der analytischen Säule, sind für den Methodenvergleich von ICP-OES und ITP für das Element Chrom nur die Ergebnisse der Proben R_25.7.98 und R_18.7.98 herangezogen worden. Die Isotachopherogramme der anderen Proben lieferten aufgrund dieser Schwierigkeiten für das Element Chrom keine reproduzierbaren Stufen. Erst nach Austausch der Säule (Säule 2; 19 cm Länge; 300 µm i. D. FEP) sind reproduzierbare Ergebnisse erhalten worden, die für den Methodenvergleich herangezogen werden konnten.

- **Ergebnisse:**

In Tab. 32 sind die erhaltenen Ergebnisse des Methodenvergleichs von ITP (ItaChrom EA 101) und ICP-OES (Plasma 40) dargestellt.

| Werte x_R bzw. x_A in [$\mu\text{g/l}$] | Cr | | Ni | | Cu | | Zn | | Cd | | Pb | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | x_R | x_A | x_R | x_A | x_R | x_A | x_R | x_A | x_R | x_A | x_R | x_A |
| R 19.2.98 1 | - | - | 450 | 420 | 690 | 660 | 530 | 550 | 350 | 360 | 360 | 400 |
| R 19.2.98 2 | - | - | 1150 | 1100 | 1300 | 1300 | 1420 | 1410 | 500 | 440 | 1110 | 1030 |
| R 19.2.98 3 | - | - | 1310 | 1310 | 1660 | 1620 | 1550 | 1560 | 220 | 230 | 1670 | 1700 |
| R 19.2.98 4 | - | - | 720 | 700 | 820 | 780 | 760 | 750 | - | - | 890 | 930 |
| R 16.2.98 1 | - | - | 800 | 740 | 770 | 750 | 880 | 810 | 470 | 550 | 630 | 650 |
| R 16.2.98 2 | - | - | 870 | 900 | 400 | 400 | 900 | 820 | 540 | 590 | 1490 | 1500 |
| R 16.2.98 3 | - | - | 700 | 770 | 330 | 350 | 1250 | 1130 | 630 | 700 | 860 | 900 |
| R 16.2.98 4 | - | - | 620 | 620 | 240 | 280 | 880 | 810 | 1260 | 1210 | 650 | 600 |
| R 16.2.98 5 | - | - | 660 | 650 | 480 | 490 | 1560 | 1780 | 440 | 420 | 560 | 530 |
| R 16.2.98 6 | - | - | 1530 | 1490 | 540 | 550 | 1050 | 1000 | 550 | 520 | 1670 | 1780 |
| R 16.2.98 7 | - | - | 640 | 620 | 360 | 400 | 940 | 910 | 530 | 450 | 830 | 910 |
| R 16.2.98 8 | - | - | 900 | 890 | 1230 | 1160 | 970 | 900 | - | - | - | - |
| R 17.2.98 1 | - | - | 720 | 740 | 160 | 150 | 490 | 450 | 570 | 600 | 2500 | 2440 |
| R 17.2.98 2 | - | - | 590 | 560 | 330 | 310 | 560 | 570 | 340 | 360 | 2150 | 2320 |
| R 17.2.98 3 | - | - | 870 | 840 | 570 | 590 | 1090 | 1070 | 610 | 590 | 3600 | 3950 |
| R 17.2.98 4 | - | - | 380 | 360 | 980 | 1040 | 1520 | 1480 | 1010 | 1100 | 4120 | 4150 |
| R 17.2.98 5 | - | - | 1130 | 1000 | 230 | 250 | 340 | 350 | 560 | 600 | 560 | 530 |
| R 17.2.98 6 | - | - | 1510 | 1400 | 1010 | 1030 | 1190 | 1090 | 1310 | 1290 | 1540 | 1540 |
| R 17.2.98 7 | - | - | - | - | 1360 | 1380 | 1560 | 1510 | - | - | 1860 | 1850 |
| R 25.6.98 1 | - | - | 1660 | 1700 | 1010 | 990 | 560 | 570 | 760 | 740 | 740 | 750 |
| R 25.6.98 2 | - | - | 660 | 660 | 660 | 630 | 820 | 730 | 510 | 530 | 490 | 530 |
| R 25.6.98 3 | - | - | 510 | 510 | 550 | 530 | 730 | 670 | 880 | 890 | 440 | 400 |
| R 25.6.98 4 | - | - | 1010 | 1080 | 930 | 890 | - | - | 490 | 520 | 500 | 520 |
| R 25.6.98 5 | - | - | 1500 | 1500 | 550 | 540 | - | - | - | - | 1070 | 1100 |
| R 26.5.98 1 | - | - | 890 | 840 | 270 | 250 | 500 | 540 | 830 | 800 | 400 | 400 |
| R 26.5.98 2 | - | - | 800 | 750 | 320 | 290 | 990 | 1050 | 450 | 410 | 1450 | 1390 |
| R 26.5.98 3 | - | - | 290 | 310 | 400 | 400 | 1000 | 920 | 430 | 510 | 1470 | 1340 |
| R 26.5.98 4 | - | - | 800 | 740 | 750 | 700 | 840 | 900 | 480 | 500 | 450 | 450 |
| R 26.5.98 5 | - | - | 860 | 850 | 350 | 350 | 1000 | 940 | 350 | 380 | 800 | 690 |
| R 26.5.98 6 | - | - | 800 | 720 | 300 | 290 | - | - | 500 | 500 | 1650 | 1700 |
| R 26.5.98 7 | - | - | 950 | 1030 | 880 | 900 | - | - | - | - | - | - |
| R 26.6.98 1 | - | - | 1010 | 980 | 590 | 570 | 1030 | 940 | 920 | 850 | 1020 | 1100 |
| R 26.6.98 2 | - | - | 1070 | 1010 | 650 | 610 | - | - | 910 | 950 | 1200 | 1080 |
| R 26.6.98 3 | - | - | 1100 | 1040 | - | - | - | - | - | - | 1037 | 1130 |
| R 25.5.98 1 | - | - | 370 | 410 | 220 | 230 | 320 | 300 | 240 | 260 | 410 | 370 |
| R 25.5.98 2 | - | - | 220 | 230 | 300 | 290 | 230 | 250 | 120 | 120 | 170 | 160 |
| R 25.5.98 3 | - | - | - | - | 210 | 200 | 980 | 1000 | 160 | 150 | - | - |
| R 25.5.98-4 | - | - | - | - | 210 | 220 | - | - | 210 | 220 | - | - |
| R 18.2.98 1 | - | - | 810 | 840 | 750 | 740 | 710 | 740 | 740 | 720 | 710 | 730 |
| R 18.2.98 2 | - | - | 480 | 470 | 470 | 480 | 490 | 460 | 420 | 390 | 480 | 470 |
| R 18.2.98 3 | - | - | 250 | 230 | 240 | 260 | 260 | 260 | 240 | 250 | 240 | 250 |
| R 25.7.98 1 | 290 | 300 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 25.7.98 2 | 240 | 270 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 25.7.98 3 | 460 | 480 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 25.7.98 4 | 270 | 290 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 25.7.98 5 | 240 | 230 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 18.7.98 1 | 1440 | 1400 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 18.7.98 2 | 440 | 430 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| R 18.7.98 3 | 240 | 250 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| N | 8 | | 38 | | 40 | | 34 | | 35 | | 37 | |

Tab. 32: Zusammenfassung der Ergebnisse beim Methodenvergleich von ICPOES und ITP; Index R: Referenzverfahren (ICP-OES), Index A: Alternativverfahren (ITP)

Der Methodenvergleich von ITP und ICP-OES zeigt für alle Elemente (Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei) mit Ausnahme von Chrom bezüglich der Gleichwertigkeit beider Analysenverfahren ähnliche Ergebnisse (vergleiche Abbildungen 52 bis 57 und Tabellen 33 bis 37). Für Chrom sind wegen den vorher genannten Problemen mit dem Leitfähigkeitsdetektor in der analytischen Säule nur insgesamt 8 Wertepaare x_{iA} und x_{iR} (aus Probe R_25.7.98 5 Probelösungen und für Probe R_18.7.98 3 Probelösungen) in die statistische Berechnung einbezogen worden. Für eine statistisch gesicherte Aussage (nach dem Verfahren der Orthogonalregression und dem Verfahren nach Bablok Passing) zur Gleichwertigkeit beider Analysenverfahren (für das Element Chrom) reicht die Anzahl der Wertepaare nicht aus. Allerdings liefert das Verfahren der Orthogonalregression einen Hinweis auf die Gleichwertigkeit beider Analysenverfahren auch für das Element Chrom (vergleiche Abb. 56).

Die mittleren Abweichungen der Wiederfindungen vom Referenzverfahren für die Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei lagen zwischen 4,2 und 6,2 %. Aus den Abbildungen 46 bis 51 erkennt man, dass für alle Elemente die Mehrzahl der Abweichungen im Bereich bis 6 % lag. Außerdem zeigen die Abbildungen 46 bis 51 für keines der Elemente im Bereich von 200 bis 1800 $\mu\text{g/l}$ systematische Minder- oder Überbefunde.

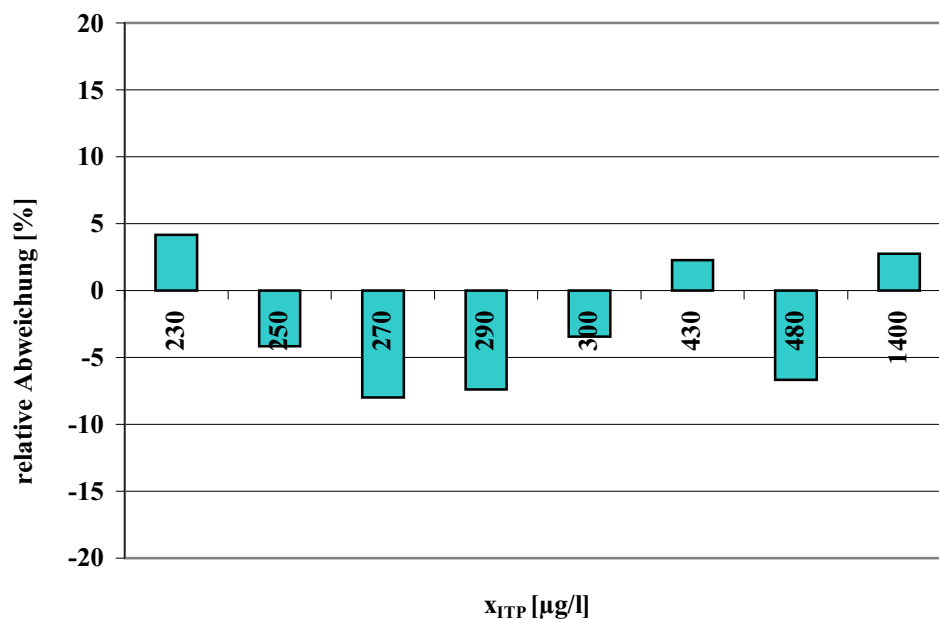


Abb. 46: Relative Abweichung der Messergebnisse für Cr (ITP) vom Referenzverfahren (ICP-OES)

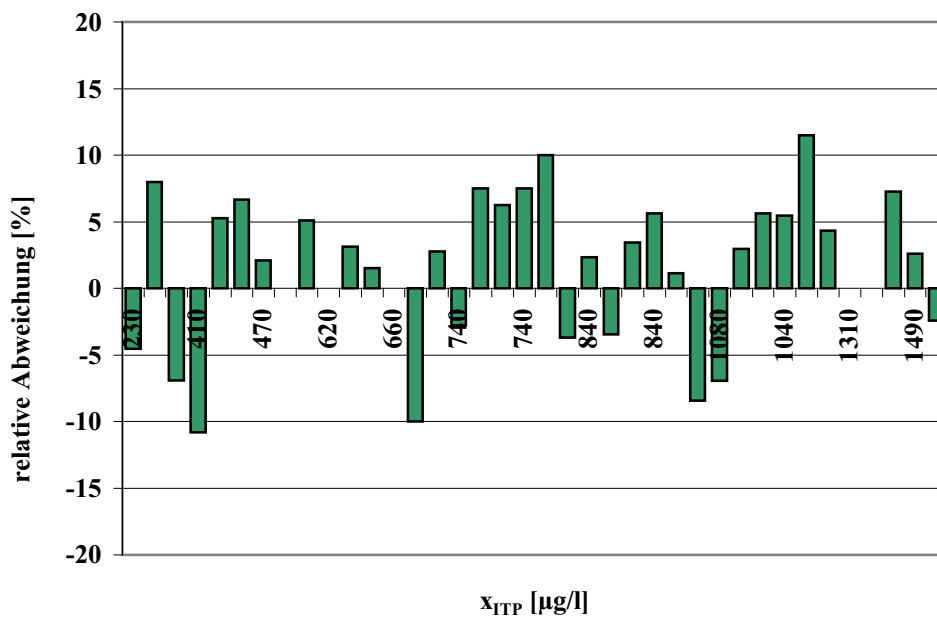


Abb. 47: Relative Abweichung der Messergebnisse für Ni (ITP) vom Referenzverfahren (ICP-OES)

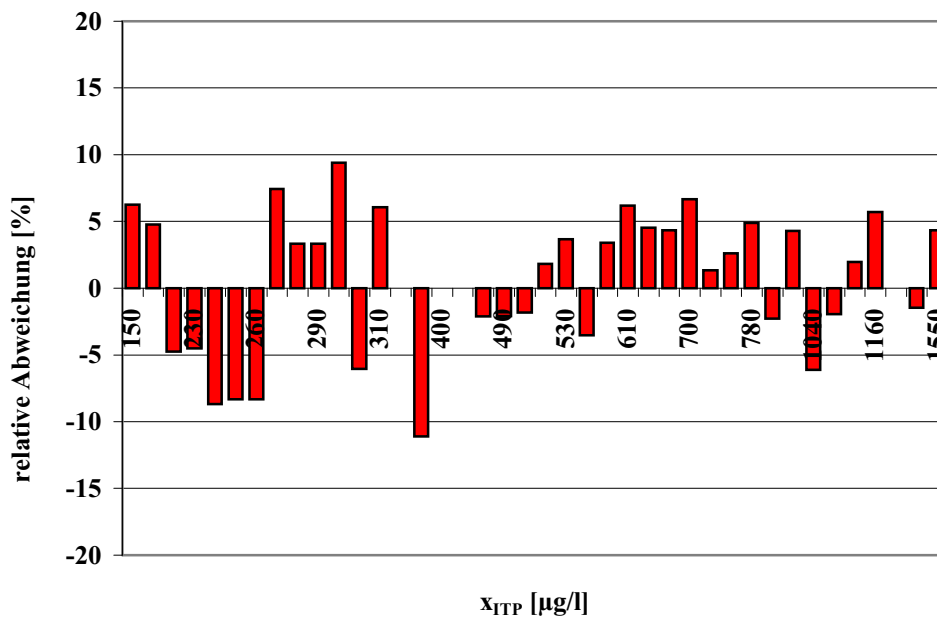


Abb. 48: Relative Abweichung der Messergebnisse für Cu (ITP) vom Referenzverfahren (ICP-OES)

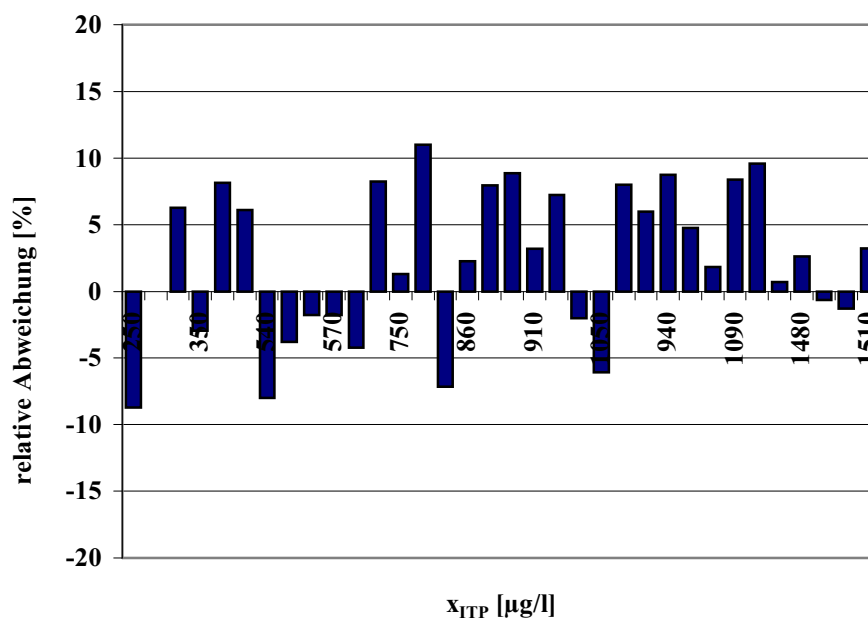


Abb. 49: Relative Abweichung der Messergebnisse für Zn (ITP) vom Referenzverfahren (ICPOES)

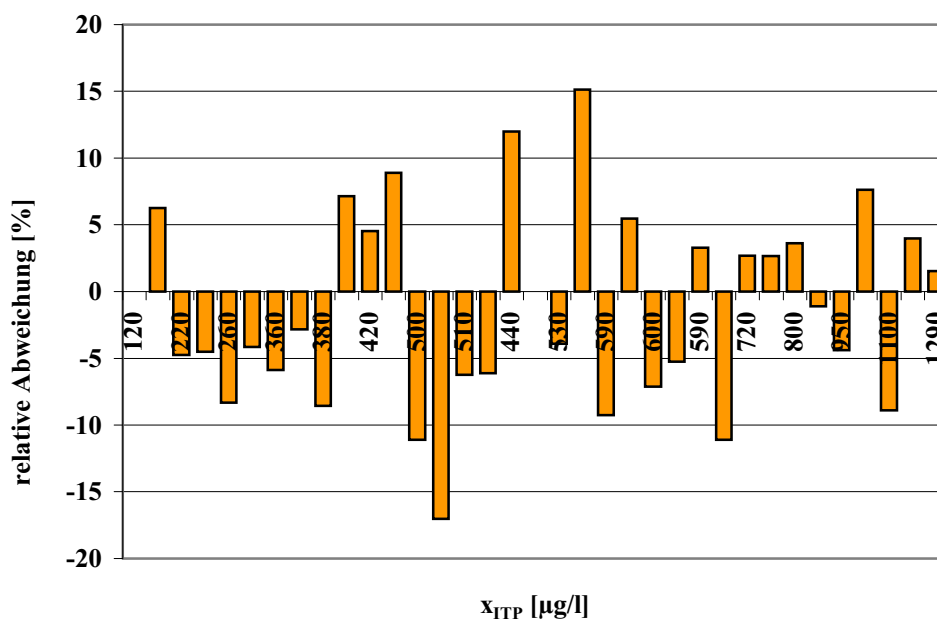


Abb. 50: Relative Abweichung der Messergebnisse für Cd (ITP) vom Referenzverfahren (ICPOES)

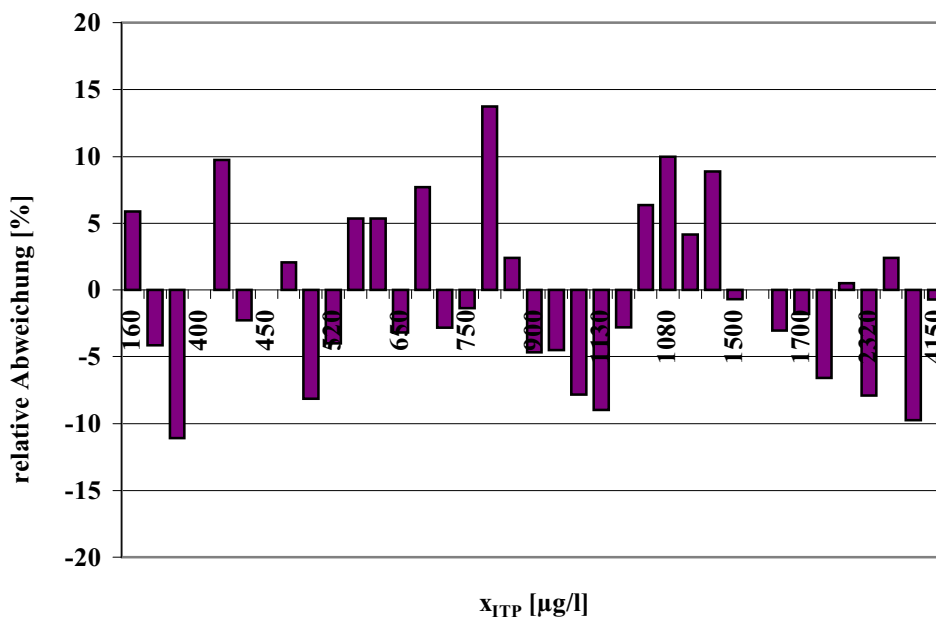


Abb. 51: Relative Abweichung der Messergebnisse für Pb (ITP) vom Referenzverfahren (ICPOES)

Die nach dem Verfahren der Orthogonalregression und dem Verfahren nach Bablok -Passing berechneten Korrelationskoeffizienten lagen für die Analyten Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei zwischen 0,989 und 0,997. Für Chrom ist der Korrelationskoeffizient mit 0,999 nach dem Verfahren Orthogonalregression berechnet worden. Die aus den Wertepaaren x_{iA} und x_{iR} für die Elemente Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei errechneten Prüfgrößen PG_t waren mit 1,16 bis 2,04 deutlich geringer als die entsprechenden $t_{p,f}$ -Tabellenwerte ($P = 99\%$, $f > 30$) mit 2,576 [69] (vergleiche Tabellen 33 bis 37). Das bedeutet, dass der Unterschied zwischen beiden Verfahren nur zufällig und nicht signifikant ist. Auch das statistische Verfahren nach Bablok-Passing bestätigt die Gleichwertigkeit beider Verfahren für die vorher genannten Elemente. Die für die Elemente nach Bablok-Passing errechneten Vertrauensbereiche für die Steigungen a_1 und Achsenabschnitte a_0 schließen die berechneten Steigungen und Achsenabschnitte ein (vergleiche Tabellen 33 bis 37). Die Tabellen 33 bis 37 enthalten die Regressionsdaten und die Abbildungen 52 bis 57 stellen den Methodenvergleiche von ICP-OES und ITP grafisch dar.

| Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Nickel | | | |
|---|---|-------|---------------------------------------|
| Referenz- / Alternativverfahren ICP-OES / ITP | | R | Regressionsgeraden: |
| Orthogonalregression: | | 0,991 | $x_{ITP} = 0,97 * x_{ICP-OES} + 7,4$ |
| Prüfgröße PG_t : 1,46 | | | |
| Bablok-Passing: | | 0,991 | $x_{ITP} = 0,97 * x_{ICP-OES} + 11,4$ |
| Vertrauensbereich für den Achsenabschnitt a_0 : | Vertrauensbereich für die Steigung a_1 : | | |
| $a_{0u} = -27,8$ und $a_{10} = 46,8$ | $a_{1u} = 0,91$ und $a_{10} = 1$ | | |

Tab. 33: Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Nickel

| Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Kupfer | | | |
|---|--|-------|--------------------------------------|
| Referenz- / Alternativverfahren ICP-OES / ITP | | R | Regressionsgerade |
| Orthogonalregression: | | 0,996 | $x_{ITP} = 0,98 * x_{ICP-OES} + 7,9$ |
| Prüfgröße PG _i : 2,04 | | | |
| Bablok-Passing: | | 0,996 | $x_{ITP} = 0,97 * x_{ICP-OES} + 7,8$ |
| Vertrauensbereich für den Achsenabschnitt a ₀ : | Vertrauensbereich für die Steigung a ₁ : | | |
| a _{0u} = -11,2 und a ₁₀ = 34,9 | a _{1u} = 0,92 und a ₁₀ = 1,0 | | |

Tab. 34: Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Kupfer

| Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Zink | | | |
|---|--|-------|---------------------------------------|
| Referenz- / Alternativverfahren ICP-OES / ITP | | R | Regressionsgerade |
| Orthogonalregression: | | 0,992 | $x_{ITP} = 0,97, * x_{ICP-OES} + 6,3$ |
| Prüfgröße PG _i : 1,76 | | | |
| Bablok-Passing: | | 0,992 | $x_{ITP} = 0,97 * x_{ICP-OES} + 2,2$ |
| Vertrauensbereich für den Achsenabschnitt a ₀ : | Vertrauensbereich für die Steigung a ₁ : | | |
| a _{0u} = -65,4 und a ₁₀ = 30,5 | a _{1u} = 0,91 und a ₁₀ = 1,04 | | |

Tab. 35: Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Zink

| Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Cadmium | | | |
|--|---|-------|---------------------------------------|
| Referenz- / Alternativverfahren ICP-OES / ITP | | R | Regressionsgerade |
| Orthogonalregression: | | 0,989 | $x_{ITP} = 0,98 * x_{ICP-OES} + 15,5$ |
| Prüfgröße PG_i : 1,65 | | | |
| Bablok-Passing: | | 0,989 | $x_{ITP} = 0,99 * x_{ICP-OES} + 26,5$ |
| Vertrauensbereich für den Achsenabschnitt a_0 : | Vertrauensbereich für die Steigung a_1 : | | |
| $a_{0u} = -21,6$ und $a_{10} = 64$ | $a_{1u} = 0,89$ und $a_{10} = 1,11$ | | |

Tab. 36: Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Cadmium

| Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Blei | | | |
|---|---|-------|--|
| Referenz- / Alternativverfahren ICP-OES / ITP | | R | Regressionsgerade |
| Orthogonalregression: | | 0,996 | $x_{ITP} = 1,0 \cdot x_{ICP-OES} - 10,3$ |
| Prüfgröße PG_i : 1,16 | | | |
| Bablok-Passing: | | 0,996 | $x_{ITP} = 1,0 \cdot x_{ICP-OES} + 4,5$ |
| Vertrauensbereich für den Achsenabschnitt a_0 : | Vertrauensbereich für die Steigung a_1 : | | |
| $a_{0u} = -31,9$ und $a_{10} = 52,5$ | $a_{1u} = 0,97$ und $a_{10} = 1,08$ | | |

Tab. 37: Zusammenfassung der Regressionsdaten für das Element Blei

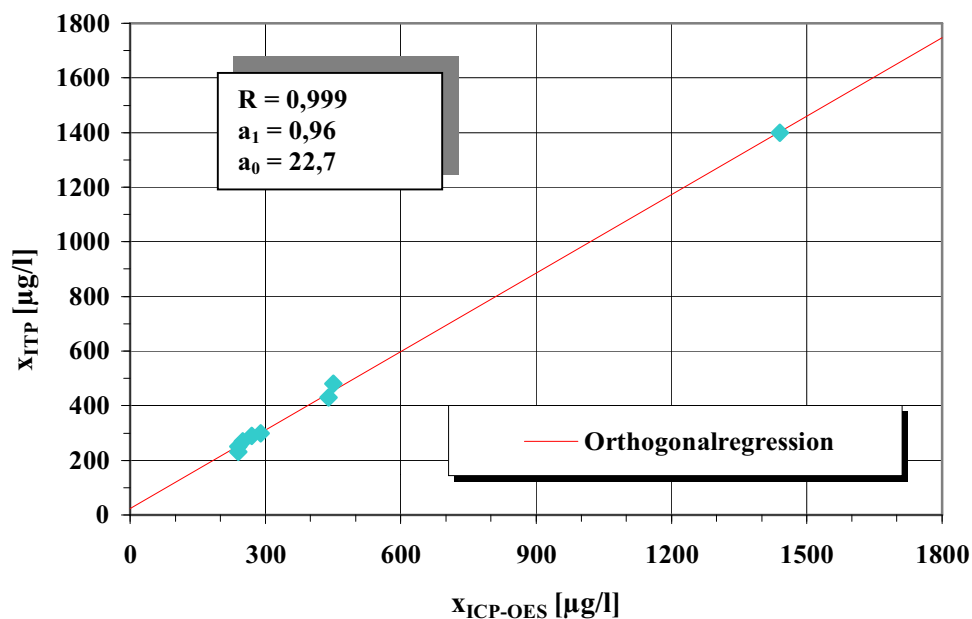


Abb. 52: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression; Chrom

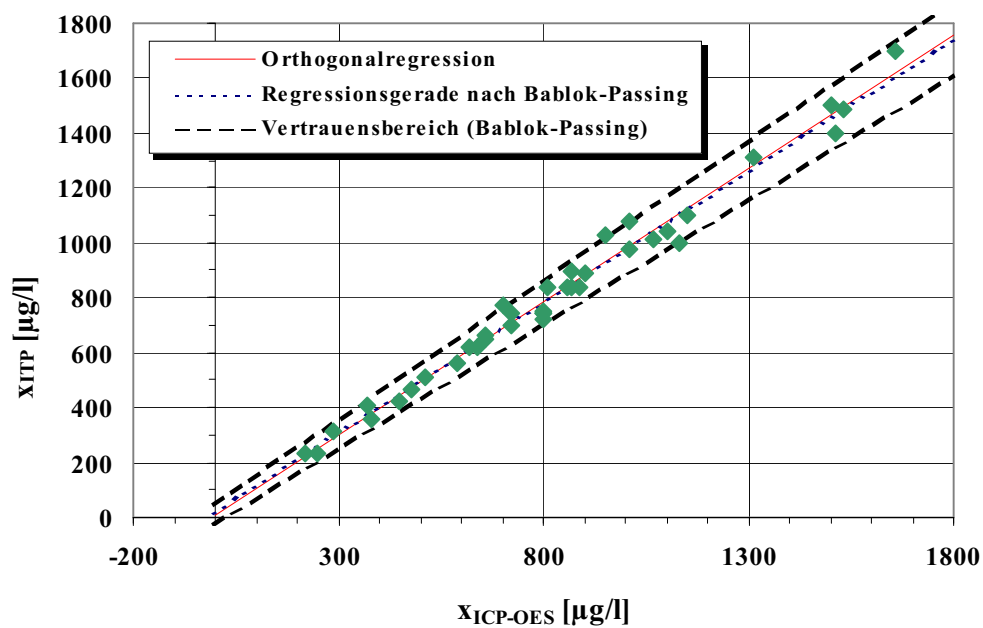


Abb. 53: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression und BablokPassing; Nickel

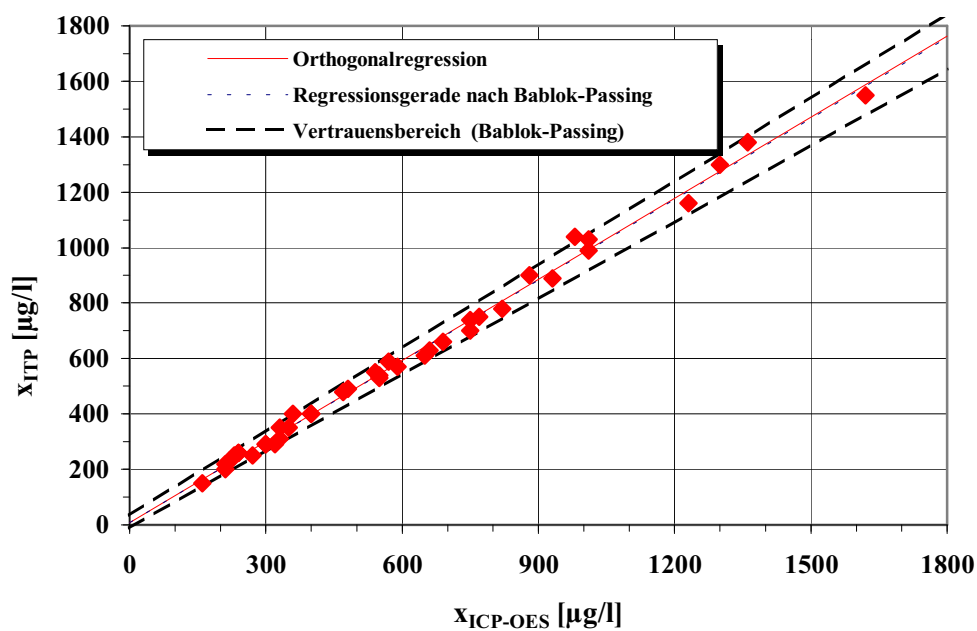


Abb. 54: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression und BablokPassing; Kupfer

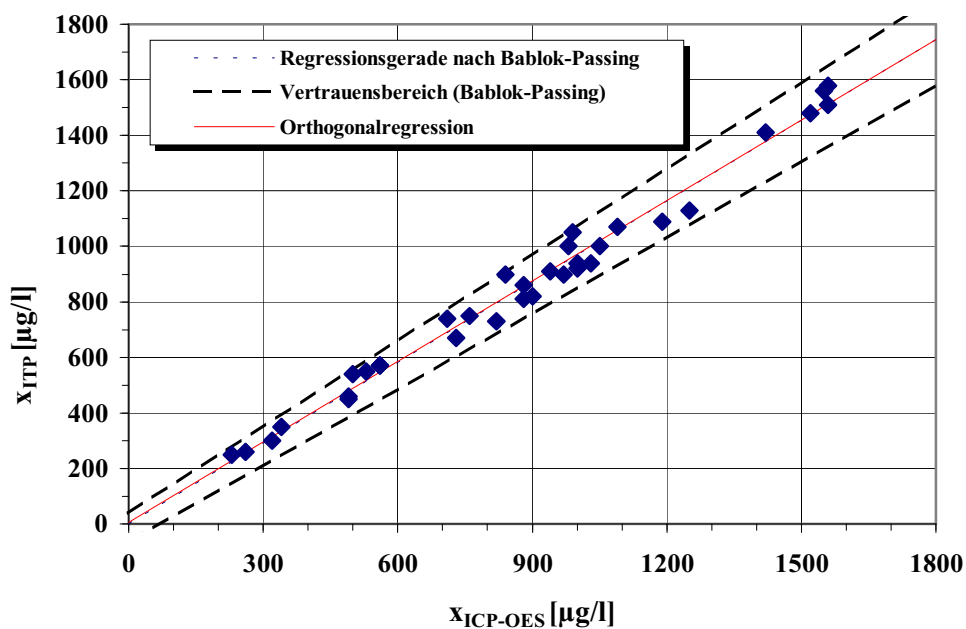


Abb. 55: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression und BablokPassing; Zink

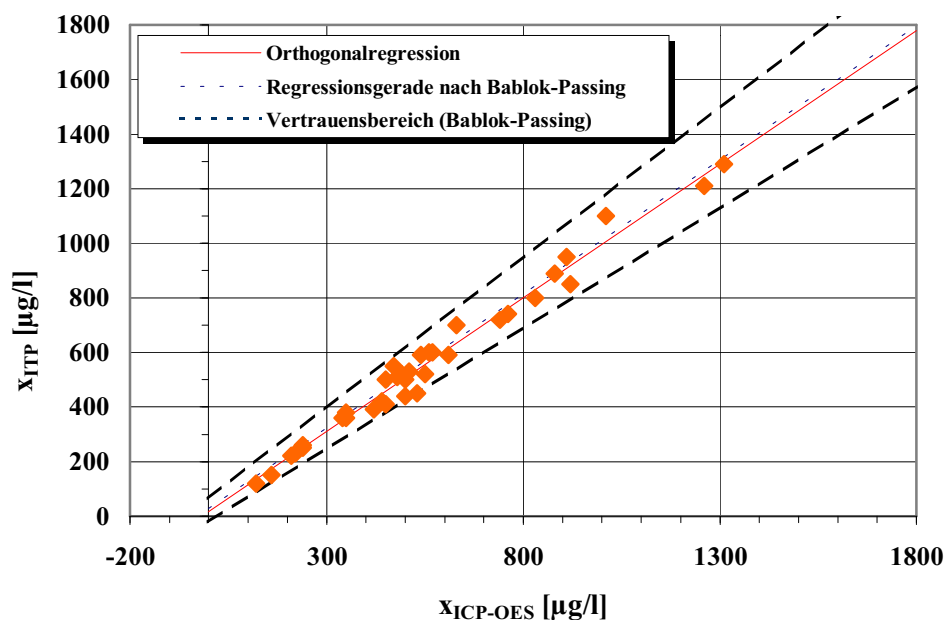


Abb. 56: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression und BablokPassing; Cadmium

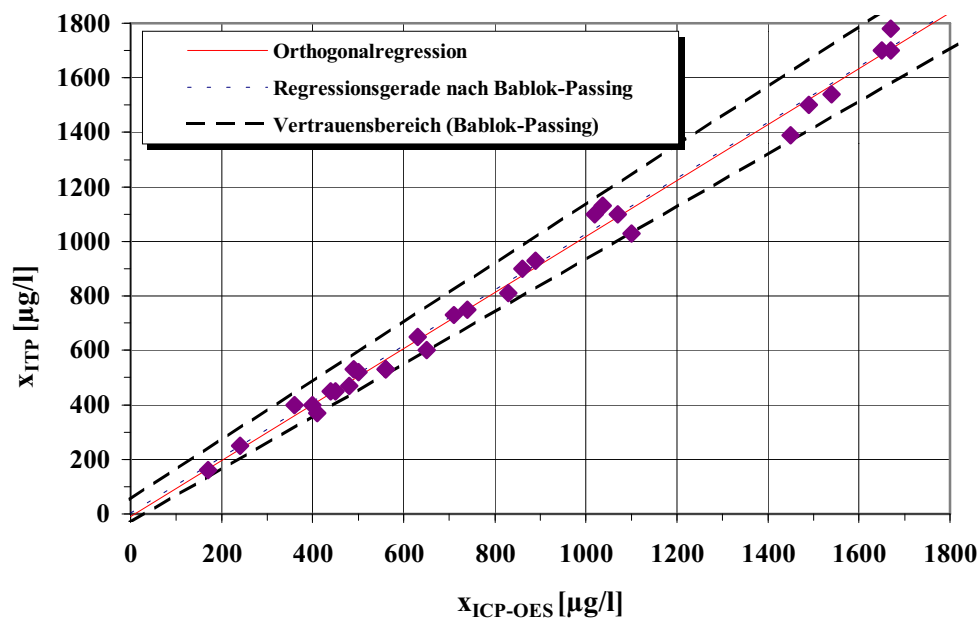


Abb. 57: Methodenvergleich ICP-OES / ITP; Orthogonalregression und BablokPassing; Blei

5 Zusammenfassung

Zur Bestimmung der Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei ist das Analysengerät ItaChrom EA 101 (basierend auf dem isotachophoretischen Trennprinzip) eingesetzt worden.

Da eine isotachophoretische Trennung nicht direkt aus den realen Proben realisiert werden kann, war es nötig, ein Trenn- und Anreicherungsverfahren zu entwickeln. Nach Zusammenführen von Trenn- und Anreicherungsverfahren mit dem isotachophoretischen Analysengerät ItaChrom EA 101 zu einem leistungsstarken Analysenverfahren kann der geforderte Arbeitsbereich, der sich an den internen Warnwerten am Zulauf zur zentralen Abwasserbehandlungsanlage orientiert, ($\mu\text{g/l}$ - bis mg/l -Bereich) abgedeckt werden (vergleiche Tab. 2).

Bei den Anreicherungsversuchen wurden Modellwasserproben eingesetzt, bei denen die Salz- und Komplexbildnerkonzentration den Konzentrationen in realen Abwässern am Zulauf zur zentralen Abwasserbehandlungsanlage ZABA der Fa. Merck KGaA entsprachen.

Zur Anreicherung der Metalle wurden verschiedene Austauscher und deren Kombinationen getestet. Die Ergebnisse, die mit dem Chelataustauscher Hyphan der Fa. Riedel-de Haen erzielt wurden, sind charakteristisch für entsprechende chelatbildende Austauscher. Bei pH-Werten unter 4 können die für den Austauscher notwendigen stabilen Chelatkomplexe nicht mehr gebildet werden, dementsprechend weit liegt das Gleichgewicht auf der Seite der freien ionischen Metallspezies. Erst bei höheren pH-Werten werden stabile Chelatkomplexe gebildet und eine ausreichende Anreicherung über die gebildeten Chelatkomplexe ist möglich (vergleiche Abschnitt 4.5). Auch die Versuche mit dem stark sauren Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA) zeigten nicht über den gesamten pH-Wert-Bereich (pH-Wert 2 bis 8) zufriedenstellende Ergebnisse. Im oberen pH-Wert-Bereich (> 6) besteht die Möglichkeit einer Komplexierung der Analyten, die dann aufgrund eventuell anionisch gebildeter Komplexe für den stark sauren Kationenaustauscher nicht mehr verfügbar sind. Es hat sich gezeigt, dass mit dem entwickelten Schichtbettaustauschersystem im pH-Wert Bereich 2 bis 4 die besten Ergebnisse erzielt wurden.

Das entwickelte Trenn- und Anreicherungsverfahren besteht letztendlich aus einem Schichtbettaustauscher, der sich aus den Komponenten Kationenaustauscher I (Fa. Merck KGaA) – Hyphan[®] (Fa Riedel-de Haen) – Kationenaustauscher I zusammensetzt (vergleiche Abschnitt 4.3.1, 4.3.2 und 4.5).

Aus den Abbildungen 17 und 18 erkennt man deutlich, dass alle drei Austauscherkomponenten bei der Anreicherung der Elemente eine Rolle spielen. Der pH-Wert spielt bei der Anreicherungen der Elemente an den einzelnen Austauscherkomponenten eine entscheidende Rolle. Beispielhaft ist die Wiederfindung des Analyten Blei in den einzelnen Austauscherkomponenten angegeben (Abb. 18).

Die Anreicherung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei hat ergeben, dass alle Analyten zwischen 79 und 81 % angereichert wurden. Die relativen Standardabweichungen (RSD) variieren von 7 bis 11 %; für das Element Chrom wurde eine relative Standardabweichung von 14 % berechnet.

In den Abbildungen 20 bis 25 sind die Wiederfindungen der einzelnen Analyten dargestellt. Aus den Abbildungen 26 bis 31 erkennt man, dass die Anreicherung der Elemente am entwickelten Austauschersystem unabhängig von der Konzentration der Elemente (bis zu 1000 µg/l) in den realen Proben linear ist.

Mit den in der Literatur (vergleiche Abschnitt 4.8.1) beschriebenen Elektrolytsystemen war es nicht gelungen, die Analyten Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei nebeneinander zu bestimmen. Die Isotachopherogramme zeigten entweder nicht reproduzierbare Zonen (vergleiche Abb. 33) oder Mischzonenbildung (vergleiche Abb. 34). Es war deswegen notwendig, ein eigenes Elektrolytsystem zu entwickeln und zu evaluieren, um die relevanten Schwermetalle nebeneinander zu bestimmen. Aus Abb. 36 erkennt man, dass die Schwermetalle mit Hilfe des entwickelten Elektrolytsystems (beschrieben in Tab. 19) isotachophoretisch nebeneinander bestimmen werden können (vergleiche Abschnitt 4.8.1). Die Selektivität, Richtigkeit und Reproduzierbarkeit für dieses Elektrolytsystem zur isotachophoretischen Bestimmung der Elemente Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei wurden bestimmt.

Bei der Isotachophorese kann die Nachweis- und Bestimmungsgrenze nicht nach dem Blindwertverfahren bestimmt werden. Die kleinste bestimmbare Konzentration wurde für eine Zonenlänge von 1 Sekunde festgelegt und aus den Kalibrierfunktionen berechnet. Die kleinsten bestimmbaren Konzentrationen sind für die Analyten Chrom, Nickel, Kupfer, Zink und Cadmium zu 0,25 bis 0,4 mg/l unter den in Abschnitt 4.8.5 beschriebenen Bedingungen berechnet worden. Für das Element Blei ergab sich als kleinste bestimmbare Konzentration 1,3 mg/l (vergleiche Tab. 26).

Die Abhängigkeit der Zonenlänge von Probenaufgabevolumen und Stromstärke werden in den Abbildungen 37 bis 40 deutlich. Aus Abb. 38 ist trotz manueller hydrostatischer Injektion eine lineare Abhängigkeit der Zonenlänge von dem Injektionsvolumen zu erkennen und man erhält durch eine Erhöhung des Probenaufgabevolumens um den Faktor 2 eine um etwa den Faktor 2 größere Zonenlänge.

Allerdings ist der Vorteil einer größeren Zonenlänge bzw. besseren Nachweis und Bestimmungsgrenze mit dem Nachteil einer zunehmenden Analysendauer verbunden (vergleiche Tab. 20).

Für die Evaluierung des Analysenverfahrens (ItaChrom EA 101 in Verbindung mit dem oben beschriebenen Trenn- und Anreicherungsverfahren) gegen ein Referenzverfahren der ICP-OES (Plasma 40, der Fa. Perkin Elmer in Verbindung mit demselben Trenn- und Anreicherungsverfahren) sind reale Proben vom Zulauf der Abwasserbehandlungsanlage im Zeitraum von Februar 98 bis Juli 98 verwendet worden.

Folgende Aussagen wurden mit Hilfe der statistischen Auswertung nach der Orthogonalregression und dem Verfahren nach Bablok-Passing getroffen.

Die Evaluierung hat ergeben, dass beide Verfahren unter in Abschnitt 4.9 beschriebenen Versuchsbedingungen, für die Elemente Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei als gleichwertig anzusehen sind. Für das Element Chrom konnte diese Aussage statistisch nicht gesichert werden. Allerdings zeigt die Auswertung nach der Orthogonalregression auch für das Element Chrom einen Hinweis auf Gleichwertigkeit beider Verfahren.

Die aus den Wertepaaren x_{iA} und x_{iR} und den Mittelwerten \bar{x}_A und \bar{x}_R für die Elemente errechneten Prüfgrößen PG_t (*Differenzen-t-Test*, vergleiche Abschnitt 3.3.4.2) sind deutlich geringer als die Tabellenwerte- $t_{f,p(99\%)}$ [69]. Damit sind die Unterschiede der beiden Verfahren nach der statistischen Auswertung der Orthogonalregression mit anschließenden *Differenzen-t-Test* nur zufällig und nicht signifikant. Auch das statistische Verfahren von Bablok-Passing bestätigt die Gleichwertigkeit beider Verfahren für die Elemente Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei. Die berechneten Vertrauensbereiche für die Steigungen β (β_u und β_o) und die Achsenabschnitte α (α_u und α_o) schließen die entsprechenden berechneten Steigungen β und Achsenabschnitte α der einzelnen Elemente ein (vergleiche Abbildungen 52 bis 57).

Für alle Elemente lag die Mehrzahl der Abweichungen der Wiederfindung vom Referenzverfahren bei etwa 5 % und es wurde für keines der Elemente systematische Minder- oder Überbefunde gefunden (vergleiche Abbildungen 46 bis 51).

Durch Zusammenführen von Trenn- und Anreicherungsverfahren mit dem Analysengerät ItaChrom EA 101 zu einem leistungsstarken Verbundverfahren konnte eine deutlich schnellere Verfügbarkeit der Analyseergebnisse (zur Zeit werden im Umweltlabor der zentralen Abwasserbehandlungsanlage der Fa. Merck, nach Probenahme von 2 h und 24 h Mischwasserproben und Bestimmung nach DIN 38406, bis zu 24 h für die Bereitstellung der Analyseergebnisse benötigt) erreicht werden. Der Zeitaufwand für eine Analyse (aus realen Proben am Zulauf der Abwasserbehandlungsanlage) setzt sich aus der benötigten Zeit für das Trenn- und Anreicherungsverfahren (etwa 5 Minuten) und der benötigten Zeit der eigentlichen Multielementanalyse mit der ItaChrom EA 101 (etwa 10 bis 15 Minuten) zusammen. Daraus ergibt sich eine gesamte Analysedauer von etwa 15 bis 20 Minuten.

Aufgrund der Größe des Analysengerätes ItaChrom EA 101 (Höhe ca. 40 cm, Breite ca. 20 cm), des geringen Verbrauches an Chemikalien, der Stabilität der Auswertung über eine Kalibrierfunktion über einen sehr langen Zeitraum, der guten Wiederverwendbarkeit der Schichtbettaustauscher und der Möglichkeit der Automation ist ein Einsatz an strategisch wichtigen Orten im Bereich der Fa. Merck KGaA (Abwasserstränge einzelner Betriebe) möglich.

Aus oben genannten Aspekten ergibt sich außerdem, dass der Kostenaufwand für eine Analyse erheblich reduziert werden kann. Als entscheidender Faktor ist dabei die Reduzierung des Personalaufwandes zu nennen, der durch eine weitgehende Automatisierung des Analysensystems erreicht wird.

6 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit ist die Grundlage geschaffen worden, um durch Kombination des entwickelten Anreicherungssystems und der Bestimmung mittels Isotachophorese ein leistungsstarkes Verbundverfahren zu erhalten. Nach Übernahme des ItaChrom EA 101 durch die Firma J&M soll das bestehende ITP-System in einer Modulbauweise realisiert werden. Durch eine solche Bauweise soll ermöglicht werden, dass über entsprechende Adapter Probenvorbereitungssysteme wie z. B. das hier entwickelte Anreicherungssystem mit dem ITP-System direkt gekoppelt werden können. Des Weiteren besteht für die in der vorliegenden Arbeit verwendeten on-column-Leitfähigkeitsdetektoren Entwicklungsbedarf.

Die on-column-Leitfähigkeitsdetektoren zeigten vor allem für stark saure Matrices keine ausreichende Robustheit. Nach Auskunft der Fa. J&M sollen in naher Zukunft berührungslose Leitfähigkeitsdetektoren zur Verfügung stehen.

Sind die Voraussetzungen geschaffen, beide Bausteine in modularer Bauweise zu koppeln, ist es notwendig, das so entstandene Verbundverfahren unter realen Bedingungen zu testen und zu optimieren (z. B. am Zulauf zur Abwasserbehandlungsanlage der Fa. Merck KGaA oder an Abwassersträngen relevanter Produktionsbetriebe).

Aufgrund der Trennung von Anreicherungsverfahren und der eigentlichen Bestimmungsmethode sind die unterschiedlichsten Kombinationsmöglichkeiten zwischen Anreicherungsverfahren und Bestimmungsmethode gegeben (z. B. Kopplung des entwickelten Anreicherungssystems mit Atomabsorptionsspektrometrie als Bestimmungsmethode oder Kopplung einer Extraktion als Anreicherungsverfahren mit der Isotachophorese als Bestimmungsmethode). Dies ermöglicht je nach vorhandenen Bedingungen und Anforderungen an das Analysenverfahren den optimalen Einsatz.

Durch das Zusammenführen von entwickeltem Anreicherungssystem und Isotachophorese ist außerdem die Möglichkeit geschaffen worden, die Auswahl der zu bestimmenden Elemente auf Alkali-, Erdalkali- und weitere Schwermetalle auszuweiten.

7 Literaturverzeichnis

- [1] Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushaltes (Wasserhaushaltsgesetz – WHG) in der Fassung der Bekanntmachung v. 23.09.1986 (BGBl. I, S. 1529 / ber. S. 1654), geändert durch Gesetz v. 12.02.1990 (BGBl. I, S. 205); Aus Umweltrecht, 6. Aufl., Beck – Texte im dtv Verlag.
- [2] Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserabgabengesetz - AbwAG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 06.11.1990 (BGBl. I, S. 2432); aus: Umweltrecht, 6. Aufl., Beck- Texte im dtv Verlag.
- [3] Hessisches Wassergesetz (HWG) in der Fassung v. 22.01.1990 (GVBl. Hessen I, S. 114) geändert durch Gesetz v. 26.06.1990 (GVBl. Hessen I, S. 197).
- [4] Verordnung über die Eigenkontrolle von Abwasseranlagen (Abwassereigenkontrollverordnung EVKO) vom 22.02.1993 (GVBl. Hessen I, Ne. 5, S. 69).
- [5] Verwaltungsvorschrift zur Eigenkontrolle von Abwasseranlagen v. 05.06.1993 (StAnz. Hessen Nr. 27 v. 05.07.1993 S. 1693).
- [6] Allgemeine Rahmenverwaltungsvorschrift über Mindestanforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (RahmenAbwasserVwV) v. 25.11.1992 (Beilage zum BAanz. Nr. 233b v. 11.12.1992).
- [7] Erlaubnisbescheid (gem. WHG § 2,3,7 und HWG § 19) des Regierungspräsidiums Darmstadt für die Fa. Merck KGaA, 64271 Darmstadt v. 25.11.1994, geänderte Fassung vom 22.01.1997.
- [8] K., F. Busch, D. Uhlmann, G. Weise, Ingenieurökologie, 1. Auflage, G. Fischer Verlag (1983).
- [9] D. Uhlmann, Hydrobiologie, 2. Auflage, G. Fischer Verlag (1982).
- [10] H. Rüffer, CLB Chem. f. Lab. u. Bed., 34, Heft 9, 389 - 397 (1983).
- [11] G. Nekusi, G. Müller, GIT Fachz. Lab., 6, 647 - 649 (1994).
- [12] J. Hahn, gwf-Wasser / Abwasser, 126 Nr. 1, 15 - 24 (1985).
- [13] L. Eisenbrand, M. Metzler, Toxikologie für Chemiker, G. Thieme Verlag (1994).
- [14] DIN 38 409 H 14; DEV, 15. Lieferung, VCH (1985).
- [15] DIN 38 409 H 51; DEV, 18. Lieferung, VCH (1987).
- [16] DIN 38 409 H 43; DEV, 11. Lieferung, VCH (1982).
- [17] DIN 38 409 H 28; DEV, 27. Lieferung, VCH (1992).
- [18] DIN 38 406 E 12; DEV, 12. Lieferung, VCH (1983).
- [19] DIN 38 405 D 9; DEV, 11. Lieferung, VCH (1982).
- [20] DIN 38 405 D 14; DEV, 12. Lieferung, VCH (1983).
- [21] DIN 38 406 E 22, DEV, VCH (1988).
- [22] H. Rüffer, CLB Chem. f. Lab. U. Betr., 34, Heft 9, 389-397 (1983).
- [23] DIN 38406 E 22, VCH Weinheim (1988)
- [24] Daten für Schwermetalle am Zulauf ZABA, Fa. Merck KGaA, Darmstadt, von April 97 bis Mai 97, Labor für Wasser- und Sonderuntersuchungen USF/AL/WS.

- [25] Abwasserdaten der ZABA , Fa. Merck KGaA, Darmstadt, von April 97 bis Mai 97, Labor für Wasser- und Sonderuntersuchungen USF/AL/WS.
- [26] K. Bächmann, Multielement concentration for trace elements, Critical Reviews in Analytical Chemistry, Darmstadt (1981)
- [27] A. G. Howard, P. J. Statham, Inorganic Trace Analysis, Philosophy and Practice, Wiley Chichester (1993).
- [28] W. Blödmern, Atomspektrometrie, Anreicherung- und Abtrenntechniken, Nachr. Chem. Tech. Lab. 41 Nr. 11, Blickpunkt Analytik (1993).
- [29] Anorganikum Band 1, Johann Barth Leipzig, Berlin, Heidelberg, Edition, Deutscher Verlag der Wissenschaften, 13. Auflage (1993); ISBN 3-335-00341-1.
- [30] Anorganikum Band 2, Johann Barth Leipzig, Berlin, Heidelberg, Edition, Deutscher Verlag der Wissenschaften, 13. Auflage (1993); ISBN 3-335-00341-1.
- [31] Hollemann und Wieberg, Lehrbuch der anorganischen Chemie , 91. – 100. Auflage, de Gruyter Verlag, Berlin, New York (1985); ISBN 3 –110-12641-9.
- [32] Friedhelm Kober, Grundlagen der Komplexchemie, Otto Salle Verlag, Frankfurt am Main, Berlin, München (1979); ISBN 3-7935-5482-1
- [33] P. Burba, P. G. Willmer, Fresenius Z. Anal. Chem. 329, 539-545 (1987).
- [34] Georg Schwedt, Taschenbuch der Analytik, Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Auflage; ISBN 3-13-759302-6.
- [35] M. Förster, K. H. Lieser, Fresenius Z. Anal. Chem. 309, 177-180 (1981).
- [36] M. Förster, K. H. Lieser, Fresenius Z. Anal. Chem. 309, 355-358 (1981).
- [37] Da-ren Yan und Georg Schwedt, Fresenius Z. Anal. Chem. 320, 325-329 (1985).
- [38] P. Burba und K. H. Lieser, Fresenius Z. Anal. Chem. 297, 374-380 (1979).
- [39] K. H. Lieser und B. Gleitsmann, Fresenius Z. Anal. Chem. 314, 391-393 (1983).
- [40] F. Kohlrausch, Ann. Phys. Chem., 62, (1897), 206.
- [41] L. Michaelis, J. Biochem., 16 (1909), 81.
- [42] R. Condsen, A. M. Gordon, A. J. P. Martin, J. Biochem., 40 (1946), 33.
- [43] A. Teselius, S. Hjerten, S. Jerstedt, Arch. Ges. Virusforsch., 17 (1965), 512.
- [44] S. Hjerten, Chromatogr. Rev., 9 (1968), 122.
- [45] A. J. P. Martin, F. M. Everaerts, Anal. Chim. Acta., 38 (1967), 233.
- [46] F. M. Everaerts, Thesis, Eindhoven (1968)
- [47] LKB, 2127 Tachophor, LBK, Bromma (1983).
- [48] Shimadzu, Capillary-Type Isotachophoretic Analyser IP-2A, Shimadzu Corp., Kyoto (1985).
- [49] I. Zelensky, V. Madajova, D. Kaniansky, P. Havasi, Lednarova, V., J. Chromatogr., 294 (1984), 317.
- [50] E. Kenndler, J. F. K. Huber, Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 171 (1980), 29.
- [51] P. Blattny, F. Kvasnicka, J. Chromatogr. A., 670 (1994), 223.

- [52] E. Vlasicova, J. Plonsky, Pharmazie, 49 (1994), 734.
- [53] H. Klein, R. Teichmann, J. Chromatogr., 250 (1982), 152.
- [54] H. Mikasa, K. Sasaki, H. Kodama, J. Chromatogr., 305 (1984), 204.
- [55] P. Delemotte, Sci. Tools, 24 (1977), 33.
- [56] Peter W. Atkins, Physikalische Chemie, VCH Weinheim, 1. Auflage (1987).
- [57] J. C. Reijenga, E. Kenndler, J. Chromatogr., 659 (1994), 403.
- [58] J. C. Reijenga, E. Kenndler, J. Chromatogr., 709 (1995), 163.
- [59] T. Hirokawa, M. Nishino, N. Aoki, Y. Kiso, J. Chromatogr., 271 (1983), D1 -D106.
- [60] P. Bocek, M. Deml, P. Gebauer, V. Dolnik, Analytical Isotachopheresis, VCH, Weinheim (1988).
- [61] P. Bocek, M. Deml, B. Kaplanova, J. Janak, J. Chromatogr., 160, 1(1978).
- [62] T. Hirokawa, T. Matsuki, H. Takemi, Y. Kiso, J. Chromatogr., 280, 233-247 (1983).
- [63] Review: Strategies for Selectivity Control in Capillary Elektrophoresis of Metal Species, A. R. Timerbaev, Veranadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, 117975 Moscow, Russia.
- [64] T. Hirokawa, T. Hirokatsu, K. Yoshiyuki, J. Chromatogr., 280, 219 – 231 (1983).
- [65] T. Hirokawa, T. Ohato, K. Nakamura, K. Nishimoto, F. Nishiyama, J. Chromatogr., 709, 171 – 180 (1995).
- [66] T. L. Lin, Y. H. Lee, Y. C. Chen, J. Chromatogr. A, 707, 342 (1993).
- [67] C. Vogt, S. Conradi, Anal. Chim. Acta, 294, 145 (1994).
- [68] D. A. MacInnes, L. G. Longworth, Chem. Rev., 11, 1171 (1992).
- [69] W. Funk, V. Dammann, C. Vonderheid, G. Oehlmann, Statistische Methoden in der Wasseranalytik, VCH Weinheim (1985).
- [70] R. Haeckel, B. Schneider, GIT Labor Medizin 2, 99 -104(1980).
- [71] V. Dammann, W. Funk, G. Donnevert, Qualitätsmessung in der analytischen Chemie, VCH Weinheim (1992).
- [72] L. Sachs, Angewandte Statistik, 4. Auflage, Springer Verlag (1978).
- [73] D. Rinne, W. Leger, Vom Wasser, 47, 91 -105 (1990).
- [74] H. Kaiser, H. Specker, Z. Anal. Chem. 149, 46 (1965).
- [75] A. Hubaux, G. Vos, Anal. Chem. 42, 849 (1970).
- [76] K. Doerfel, Statistik in der analytischen Chemie, 5. Aufl., Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1990).
- [77] V. Dammann, W. Dürr, et. al. Vom Wasser, 58, 207 -230 (1982).
- [78] H. Passing, W. Bablok, Clin. Chem. Clin. Biochem., 21, No.11, 709 –720 (1983).
- [79] H. G. Eisenwiener, W. Bablok, H. Passing, et. al., Lab.med., 8, 232 -244 (1984).
- [80] F. M. Everaerts, T. P. E. M. Verheggen, F. E. P. Mikkers, J. Chromatogr., 169 (1979), 21.
- [81] P. Bocek, et al., Analytical Capillary Isotachopheresis, Verlag Chemie, Weinheim (1987).
- [82] P. Bocek, J. Chromatogr., 334 (1985), 157.

- [83] D. Kaniansky, J. Marak, Anal.Cem., 64 (1990), 280.
- [84] D. Kaniansky, et al., Anal.Cem., 64 (1990), 280.
- [85] W. Schrader, Z. Grobowski, H. Schulze, Einführung in die AES mit induktiv gekoppelten Plasma (ICP), Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen
- [86] Ionenaustauscher und Adsorberharze, Informationsprospekt, Merck KGaA, Darmstadt
- [87] L. G. Sillen, E. A. Martell, Stability Constants, Chemical Society, London (1964), 1036.
- [88] K. H. Lieser, P. Burba, F. Ambe, Z. Anal. Chem., 295, 13 (1979).
- [89] Produktionsinformation VI/VP-Copolymere Divergan[®], BASF.
- [90] K. Fukushi, K. Hiroy, Fresenius Z. Anal. Chem., 323 (1986), 44 – 46.
- [91] D. Kaniansky, I. Zelensky, I. Valaskova, J. Marak, V. Zelenska, J. Chromatogr., 502 (1990), 143-53.
- [92] T. Hirokawa, Q. Mao, J. Chromatogr., 786 (1997), 377-381.
- [93] I. Zelensky, V. Zelenska, J. Chromatogr., 390 (1987), 111-120.
- [94] V. K. Gupta, I. Ali, Talanta, 46 (1998), 197-201.
- [95] N. G. Vanifatova, B. Y. Spivako, J. Anal. Chem., Vol. 52, No. 2 (1997), 157-161.
- [96] T. Hirokawa, M. Tsukasa, H. Takemi und Y. Kiso, J. Chromatogr., 280 (1982), 233-247.
- [97] M. Everaerts, Th. P. E. M. Verheggen, J. C. Reijenga, G. V. A. Aben, J. Chromatogr., 320 (1985), 263-268.
- [98] I. Zelensky, D. Kaniansky, P. Havasi, Th. P. E. M. Verheggen und F. M. Everaerts, J. Chromatogr., 470 (1989), 155-169.
- [99] M. Hutta, D. Kaniansky, E. Simunicova, V. Zelenska, V. Madajova, A. Siskova, J. Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles, Vol. 163, No.1 (1992), 87-98.

Lebenslauf

Zur Person

Bernd Leinert
geboren am 23. Mai 1965 in Bensheim
verheiratet

Schulausbildung

| | |
|-------------|--|
| 1971 – 1975 | Grundschule in Heppenheim |
| 1975 – 1984 | Starkenburg Gymnasium in Heppenheim mit Abschluss der allgemeinen Hochschulreife |

Wehrdienst

| | |
|-----------------------|--|
| Aug. 1984 – Okt. 1985 | Grundwehrdienst als Kraftfahrer, Fuldataal |
|-----------------------|--|

Hochschulstudium

| | |
|-----------------------|--|
| Okt. 1987 – Okt. 1995 | Studium der Chemie an der Technischen Universität Darmstadt Studienschwerpunkte: anorganisch chemische Analytik, Charakterisierung von Materialien, Strukturaufklärung von Seltenenerdcomplexen |
|-----------------------|--|

| | |
|----------------------|--|
| Mai 1995 – Okt. 1995 | Diplomarbeit im Fachbereich Materialwissenschaften, Fachgebiet chemische Analytik Thema der Arbeit: »Untersuchungen von Beschichtungen zur Verbesserung der Empfindlichkeit bei der Siliziumbestimmung mittels Graphitrohratomabsorptionsspektrometrie unter besonderer Anwendung der Elektronenstrahlmikrosonde« |
|----------------------|--|

Abschluss: Diplom Ingenieur Fachrichtung Chemie

| | |
|------------------------|--|
| Nov. 1995 – Sept. 1998 | Promotion an der Technischen Universität Darmstadt Durchführung der Dissertation bei Merck KGaA, Darmstadt im Bereich Umweltschutz / Abwasserbehandlungsanlage Thema: »Kontinuierliche Messungen von anorganischen Spezies in industriellen Kanalsystemen« |
|------------------------|--|

Commerzbank AG

| | |
|------------|--|
| Sept. 1998 | Eintritt in die Commerzbank AG im Bereich der Anwendungsentwicklung. Softwareentwicklung im Client Server Umfeld; Konzeptionelles Datenbankdesign und Datenbankadministration |
|------------|--|

| | |
|-------------------------|--|
| Sept. 1998 – Sept. 1999 | Traineeausbildung mit IT fachlichen Seminaren, Projekt- und Qualitätsmanagement, Mitarbeit in unterschiedlichen IT Projekten |
|-------------------------|--|

Praktische Tätigkeiten

| | |
|-----------------------|--|
| 1986 – 1987 | Selbständige Tätigkeit im Architekten - und Ingenieurbüro Moll GmbH in Heppenheim |
| Sep. 1989 - 1991 | Studentische Hilfskraft am Institut für anorganische Chemie der Technischen Universität Darmstadt Die Tätigkeit umfasste u.a. die Betreuung und Anleitung von Praktikanten sowie die Entwicklung und Organisation von Seminaren |
| Okt. 1997 – Jan. 1998 | Betreuung und Anleitung von Praktikanten im Rahmen eines Praxissemesters bei Merck KGaA, Darmstadt |
| Nov. 1997 | Teilnahme am Workshop »Validierung analytischer Verfahren« und der Diskussionstagung »Fortschritte der Spurenanalytik in Forschung und Praxis«, Berlin |

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich meine Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

Heppenheim, den

.....

Bernd Leinert